

Wechselwirkungen von Metallen
mit Metallothioneinen

von

Wolfgang Tuchlinski

aus

Marktredwitz

1980



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Aus dem Institut für Rechtsmedizin

der Universität Erlangen-Nürnberg

Direktor: Prof. Dr. Dr. H. B. Wuermeling

Wechselwirkungen von Metallen mit Metallothioneinen

INAUGURAL - DISSERTATION

zur Erlangung der Doktorwürde

der Medizinischen Fakultät

der Friedrich-Alexander-Universität

Erlangen-Nürnberg

vorgelegt

von

Wolfgang Tuchlinski

aus

Marktredwitz

Gedruckt mit Erlaubnis der Medizinischen Fakultät
der Universität Erlangen-Nürnberg



Dekan: Prof. Dr. W. Kersten

Referent: Prof. Dr. M. Geldmacher-v. Mallinckrodt

Korreferent: Prof. Dr. H.-B. Wuermeling

Tag der mündlichen Prüfung: 10.11.1980

MEINEN LIEBEN ELTERN

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
A. <u>Einleitende Bemerkungen über Toxizität und Essentialität von Metallen</u>	1
B. <u>Wechselwirkungen von Metallen mit Metallothionein</u>	6
B. 1. <u>Wechselwirkungen von Cadmium mit Metallothionein</u>	6
B. 1. a) im Knochen	7
B. 1. b) im Hoden	8
B. 1. c) in der Bauchspeicheldrüse	8
B. 1. d) im Blut	9
B. 1. e) im Darm	11
B. 1. f) in der Leber	13
B. 1. g) in der Niere	17
B. 2. <u>Wechselwirkungen von Zink mit Metallothionein</u>	20
B. 2. a) im Darm	21
B. 2. b) in der Leber	22
B. 2. c) in der Niere	25
B. 3. <u>Wechselwirkungen von Quecksilber mit Metallothionein</u>	27
B. 4. <u>Wechselwirkungen von Kupfer mit Metallothionein</u>	32
B. 5. <u>Wechselwirkungen von anderen Metallen mit Metallothionein</u>	38
C. <u>Schlußbetrachtung über Eigenschaften und mögliche Funktionen der Metallothioneine</u>	43
D. <u>Literaturverzeichnis</u>	45

A. EINLEITENDE BEMERKUNGEN ÜBER TOXIZITÄT UND ESSENTIALITÄT VON METALLEN

Metallothioneine sind Proteine mit niedrigem Molekulargewicht (MG 6 000 - 11 000). Sie weisen einen hohen Gehalt an Cystein auf (33 %), dessen Schwefelwasserstoffgruppen die Metallionen binden; das Absorptionsmaximum bei 250 nm ist auf die Cadmium-Schwefel-Bindung zurückzuführen, das Absorptionsminimum bei 280 nm auf das Fehlen der aromatischen Aminosäuren. Metallothioneine werden vornehmlich in Leber und Nieren auf den Reiz verschiedener Metalle hin synthetisiert. In erster Linie binden Metallothioneine das toxische Schwermetall Cadmium und das essentielle Metall Zink.

Cadmium ist wegen seiner Toxizität neuerlich wieder in den Blickpunkt geraten. Der von der World Health Organisation als gerade noch vertretbar festgesetzte Höchstwert von 400 - 500 µg Cadmium in der Nahrung pro Woche wird in der BRD schon zu etwa 80 % erreicht. Durch Verwendung von Klärschlamm zur Düngung wird Cadmium immer konzentrierter in den Produkten der Landwirtschaft verbreitet.

Metallothioneine schützen vor Cadmium-Toxizität; Untersuchungen befassen sich mit der Frage, inwieweit Metallothioneine auch Schutz vor anderen toxischen Schwermetallen bieten.

Bezug nehmend auf die Toxizität von Metallen möchte ich auf die Arbeit von Schwarz (1977) hinweisen, der angibt, daß auch sogenannte toxische Metalle wie Cadmium, Blei und Quecksilber sowie das wegen seiner Toxizität von alters her bekannte Arsen als Nichtmetall zu den Spurenelementen gehören und lebenswichtige Funktionen erfüllen können, wenn sie in entsprechend geringen Mengen vorliegen.

Im Überschuß sind auch essentielle Metalle toxisch; so ist z.B. Kupfer toxischer als Cadmium; Eisen, Molybdän und Antimon sind toxischer als Blei; Selen und Vanadium, obgleich essentiell, sind toxischer als Quecksilber.

Nachstehend findet sich eine Aufstellung über die Toxizität oral verabreichter Metallionen nach Schwarz (1977).

Tabelle 1: Die Toxizität von verschiedenen oral verabreichten Metallionen

verabreichtes Metall	tödliche Dosis bei Ratten in mg pro kg und Tag
Selenium	3,0 - 6,0
Vanadium	4,5
Arsen	4,0 - 15,0
Quecksilber	24,0
Thallium	22,5
Cadmium	48,0
Kupfer	60,0
Antimon	33,0 - 225,0
Molybdän	150,0
Eisen	180,0
Blei	810,0

Ebenso sind Antagonismus und Gleichgewicht der Metalle von größter Wichtigkeit bei Spurenelementversorgung und Giftigkeit. So muß, wohl wegen der Beschaffenheit der Elektronen auf der äußeren Schale, z.B. Kupfer mit Nickel, Molybdän und Kobalt oder Kobalt mit Zink in einem bestimmten Gleichgewicht stehen. Von Cadmium, Quecksilber und Arsen werden viele toxische Eigenschaften durch Selen neutralisiert.

Anhand des modifizierten Periodensystems auf Abbildung 1 sieht man, daß bis 1957 erst 7 Spurenelemente als essentiell bekannt waren - Eisen, Jod, Kupfer, Mangan, Zink, Kobalt und Molybdän. Heute sind 7 weitere als essentiell bekannt - Selen, Chrom, Zinn, Vanadium, Silizium, Nickel und Arsen als Nichtmetall. Bei 19 weiteren Metallen wären die Forderungen erfüllt, die man für eine mögliche Essentialität braucht. Sie sind in der Biosphäre vorhanden und werden physiologisch im Gewebe und Ei gefunden. Hierzu gehören auch die toxischen Metalle Cadmium, Quecksilber und Blei sowie Arsen. Die Vermutung von Schwarz (1977), daß Blei essentiell ist, würde die derzeitigen Vorstellungen sprengen, da bisher bei keinem Element über der Atomzahl 53 (J) biologische Wirkungen nachgewiesen wurden. Zu beachten ist noch, daß ein Spurenelement nur in gewisser Form wirksam ist - nicht alle chemischen Formen von Eisen sind biologisch wirksam; auch die Wertigkeit entscheidet, ob ein Metall toxisch oder biologisch wirksam ist.

Nachstehend findet man in einem modifizierten Periodensystem eine Übersicht über bekannte und mögliche Spurenelemente. Schwarz (1977)

Abbildung 1: Darstellung essentieller Elemente im modifizierten Periodensystem

	Gruppe 0	Gruppe I	Gruppe II	Gruppe III	Gruppe IV	Gruppe V	Gruppe VI	Gruppe VII	Gruppe VIII		
Periode 1		H									
Periode 2	He ^o	Li ^x	Be ^x	B ^x	C	N	O	F			
Periode 3	Ne ^o	Na	Mg	Al ^x	Si	P	S	Cl			
Periode 4	Ar ^o	K	Ca	Sc ⁺	Ti ^x	V	Cr	Mn	Fe	Co	Ni
		Cu	Zn	Ga ⁺	Ge ^x	As ^x	Se	Br			
Periode 5	Kr ^o	Rb ^x	Sr ^x	Y ⁺	Zr ⁺	Nb ⁺	Mo	Tc ^o	Ru ⁺	Rh ⁺	Pd ⁺
		Ag ^x	Cd ^x	In ⁺	Sn	Sb ^x	Te ⁺	J			
Periode 6	Xe ^o	Cs ^x	Ba ^x	L.	Hf ⁺	Ta ⁺	W ^x	Re ⁺	Os ⁺	Jr ⁺	Pt ⁺
		Au ^x	Hg ^x	Tl ⁺	Pb ^x	Bi ⁺	Po ^o	At ^o			
Periode 7	Rn ^o	Fr ^o	Ra ^o	A.							

Lanthaniden

La ⁺	Ce ⁺	Pr ⁺	Nd ⁺	Pm°	Sm ⁺	Eu ⁺	Gd ⁺
Tb ⁺	Dy ⁺	Ho ⁺	Er ⁺	Tm ⁺	Yb ⁺	Lu ⁺	

Aktiniden

Ac°	Th°	Pa°	U°	Np	Pu	Am	Cm
Bk	Cf	Es	Fm	Md	No	Lr	

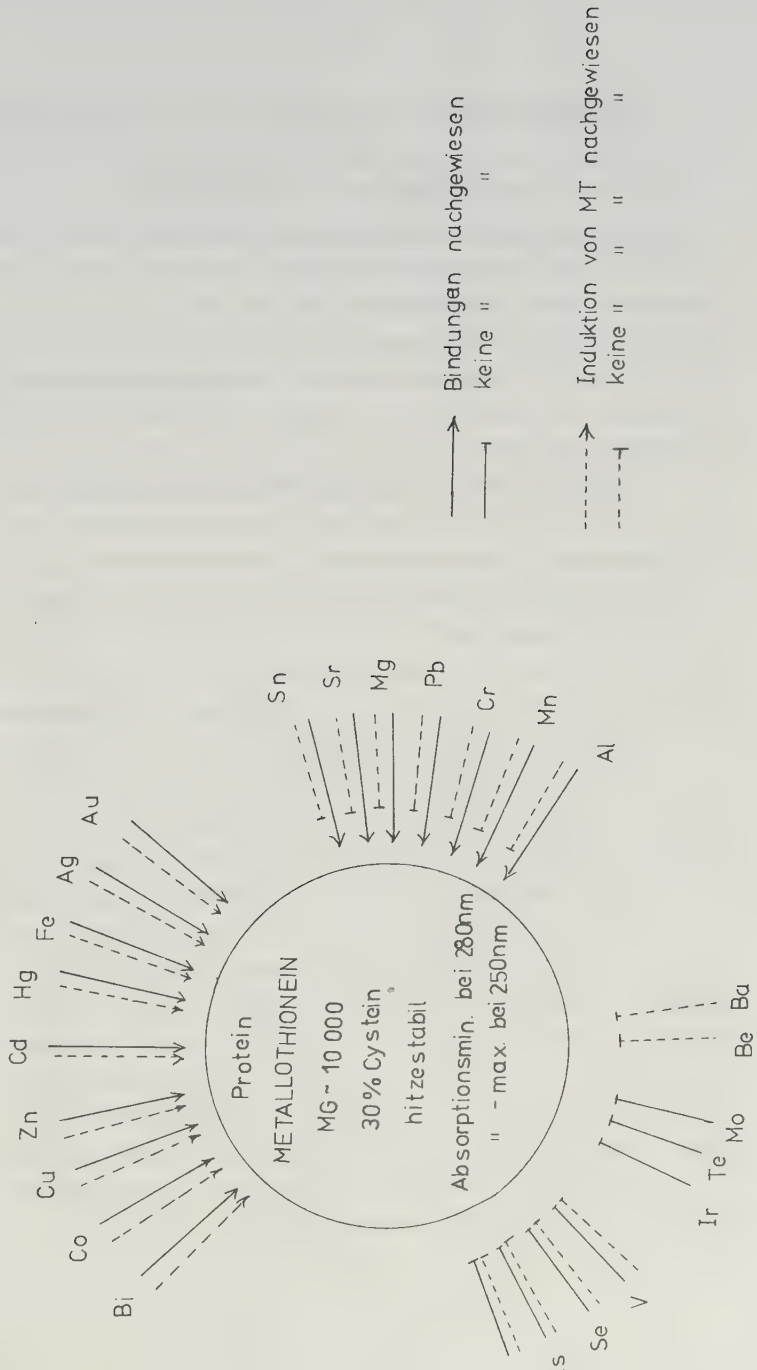
- bisher entdeckt
- x in Betracht gezogen
- + möglich
- ° unwahrscheinlich

Die Grenzen sind auch sehr eng, in welchen Mengen ein Spurenelement zu wenig vorhanden, wirksam oder schon wieder toxisch ist, d.h., Spurenelemente können gefährlich werden, wenn man zuviel verabreicht, denn die Aufnahmekapazität des Organismus ist von Element zu Element verschieden. Elemente, für die nur eine begrenzte Kapazität vorhanden ist, werden bei der Aufnahme kontrolliert, z.B. Cadmium, Eisen, Chrom. Vollzieht sich die Absorption jedoch leicht, so wird bei der Exkretion kontrolliert, z.B. Zink, Kupfer, Mangan.

Schwarz (1977) vermutet, daß das toxische Metall Cadmium physiologische Funktionen haben kann, denn es steht in Wechselwirkung mit vielen essentiellen Spurenelementen wie Zink, Kupfer, Eisen, Calcium, Selen. Außerdem wurde gezeigt, daß weit unter der toxischen Dosis liegende Cadmiumgaben das Wachstum von Ratten begünstigten, die mit cadmiumarmer Diät aufgezogen wurden. In vitro werden zahlreiche Enzyme durch Cadmium aktiviert, andere auch gehemmt, und bei dem Enzym Carbopeptidase B kann statt des normal vorhandenen Zinks Kupfer substituiert werden. Bei Blei und Arsen wurden unter Mangeldiät durch minimale Gaben positive Auswirkungen auf das Wachstum beobachtet.

Die Untersuchungen vieler Autoren befassen sich mit der Frage, ob das Protein Metallothionein, ein Protein niedrigen Molekulargewichts (MG 6 000 - 11 000), ohne aromatische Aminosäuren und mit ca. 30 % Cystein-gehalt, als Lagerungsprotein für Cadmium - ähnlich wie Ferritin für Eisen - und als Transportprotein für Cadmium - wie Transferrin für Eisen oder Caeruloplasmin für Kupfer - fungiert. Vor allem Cadmium und Zink, aber auch etliche andere Metalle, induzieren die Synthese von Metallothionein vornehmlich in Leber und Niere und werden an Metallothionein gebunden, wie die nachfolgende graphische Darstellung zur besseren Übersicht zeigen soll. Bei Metallen, die noch nicht so eingehend untersucht wurden wie Cadmium, Zink, Quecksilber oder Kupfer sowie Silber, liegen bei verschiedenen Autoren noch keine übereinstimmenden Aussagen bezüglich Bindung und Induktion vor. Hier wurde versucht, anhand der Forschungsergebnisse mehrerer Autoren einen Überblick über die Wechselwirkungen verschiedener Metalle mit Metallothionein zu vermitteln.

Abbildung 2: Wechselwirkungen von Metallen mit Metallothioneinen



B. WECHSELWIRKUNGEN VON METALLEN MIT METALLOTHIONEIN

1. Wechselwirkungen von Cadmium (Cd) mit Metallothionein

Zunächst möchte ich die Wechselwirkungen von Cadmium mit Metallothionein darstellen, da dieses Element nach Quecksilber die größte Affinität zu Metallothionein hat und am häufigsten untersucht wurde.

Cadmium (Atomgewicht 112,4) befindet sich mit Zink und Quecksilber in der II b-Gruppe des Periodensystems, deren Elemente über einer mit 10 Elektronen vollständig gefüllten $(n-1)$ d-Bahn je $2ns^2$ Elektronen in der äußersten Schale besitzen.

Cadmium fällt als Begleitelement des Zinks bei dessen Darstellung in geringen Mengen an; die Häufigkeit in der Natur liegt bei $1,5 \times 10^{-5} \%$. Das weiche Metall dient in manchen Fällen als elektrolytisch erzeugter Rostschutz für Eisen, hat aber sonst wenig praktische Bedeutung. Es kristallisiert wie Zink. Schmidt (1961)

Cadmium gelangt hauptsächlich über die Nahrung in den Körper, wo etwa 5 % absorbiert werden. In der BRD ist der von der WHO festgesetzte Grenzwert von 400 - 500 µg pro Woche in der Nahrung bereits zu 80 % erreicht. Außerdem gelangt Cadmium über die Atmung in den Organismus; hier ist die Absorption mit 10 - 50 % erheblich höher. Raucher haben nach den Untersuchungen von Piscator und Pettersson (1977) mit 50 Jahren doppelt soviel Cd in der Nierenrinde angehäuft (30 µg pro g Naßgewicht) wie Nichtraucher. In Übereinstimmung mit Nordberg (1978), Goyer und Cherian (1977) fand Piscator (1977) in der Nierenrinde einer normalen 50-jährigen Person (Nichtraucher) etwa 15 µg Cadmium pro g Naßgewicht, wobei die kritische Grenze bei 200 µg /g liegen dürfte. Da die Ausscheidung von Cadmium extrem gering ist, die Halbwertszeit mit 20 - 30 Jahren aber sehr lang, akkumuliert Cd mit zunehmendem Alter, auch deswegen, weil Cadmium wegen seiner starken Bindung an Metallothionein - sie ist ca. 3 000 mal fester als die Bindung von Zink an Metallothionein - eine sehr langsame Umsatzrate hat, während die von Zink sehr hoch ist. Syversen (1975)

Syversen fand bei 40 menschlichen Autopsien Cadmiumthionein (CdTh) in Leber und Nieren. Ein Zusammenhang zwischen Herzgefäßkrankheiten und hoher Cadmium-Exposition wurde vermutet.

Übereinstimmend mit Syversen fanden auch Petit Clerk et al. (1977) Zusammenhänge zwischen hohen Cd-Konzentrationen im Serum und Koronarinsuffizienz sowie Diabetes mellitus. Bei diesen Untersuchungen hatten Tabak und Alkohol sowie Alter und Geschlecht der Patienten keinen Einfluß auf die Konzentrationen des Cadmiums im Serum.

Nordberg (1978) kam zu dem Ergebnis, daß über 50 % des im menschlichen Körper vorhandenen Cadmiums als CdTh in Leber und Nierenrinde gebunden ist, außerdem ist CdTh in Darmmukosazellen, Pankreas, Hoden, Knochen und Plasma nachgewiesen worden.

Syversen (1975) ist der Ansicht, daß die Abwesenheit von Metallothionein bei manchen Personen und die damit verbundene niedrige Cadmiumbelastung mit einer höheren Lebenserwartung in Verbindung zu bringen ist.

a) Cadmiumthionein im Knochen

Kimura et al. (1974) fanden bei Personen, die stark Cadmium ausgesetzt waren, ein vermehrtes Auftreten der Itai-Itai-Krankheit. Da Cd in vitro die Hydroxylierungsreaktion von 25-Hydroxycalciferol verhindert, erklärte man sich diese Osteomalazie dadurch, daß die Vitamin-D-Aktivierung in der Niere blockiert wurde, da Cadmium sehr nephrotoxisch ist. In vivo wurde jedoch bei Cadmium-Gaben keine Einwirkung auf den Vitamin-B-Stoffwechsel gefunden, was darauf zurückgeführt wird, daß Cd an Metallothionein gebunden wird und damit als Cadmiumthionein nicht mehr die Nierenfunktion stört; 90 % des Cd in der Niere sind nach Suda et al. (1974) an MT gebunden. Bei Versuchen mit Ratten, die zu calciumarmer Diät 10, 30, 100, 300 ppm Cd als Cadmiumchlorid (CdCl_2) erhielten, fanden Kimura et al. (1974), daß bei 3-wöchiger Verabreichung von 300 ppm CdCl_2 bis zu 50 % der Vitamin-D-Aktivierung zurückgehalten wurden.

Da in der Niere etwa 90 % des Cadmiums untoxisch als Cadmiumthionein gebunden waren, im Knochen jedoch nur 20 % des Cd an MT gebunden gefunden wurden, führte Kimura die Knochenveränderung bei der Itai-Itai-Krankheit - Verkürzung des Epiphysenknorpels und Auflösung von Trabekeln - auf die toxische Wirkung des dort freien Cd^{2+} -Ions zurück und nicht auf die nierentoxischen Wirkungen des Cadmiums.

b) Cadmiumthionein im Hoden

Über einen noch unbekannten Mechanismus werden Hoden durch kleinste Cadmiummengen geschädigt.

Singh und Nath (1972) verabreichten Ratten intraperitoneal Cadmiumchlorid und entfernten die Hoden nach 48 Stunden. Cadmium und ein Protein mit ähnlichen Eigenschaften wie Metallothionein konnten nachgewiesen werden.

Nordberg et al. (1975) fanden bei Mäusen, denen CdCl_2 subkutan verabreicht wurde, daß sich die Hoden veränderten - sie zeigten Blutungen, Atrophien, Schwellungen und waren blaß - während Nieren und Harn unverändert blieben.

Bei der Verabreichung von Cadmiumthionein (1,1 mg /kg) blieben die Hoden der Mäuse unverändert, während die Nieren ödematös verändert waren; die Tubuluszellen wurden geschädigt.

Die Wirkung von Metallothionein-Gaben gegen eine cadmiuminduzierte Hodennekrose bei Mäusen wurde von Nordberg bewiesen.

c) Cadmiumthionein in der Bauchspeicheldrüse

Yau und Mennear (1977) fanden, daß Pankreaszellen, welche einer Konzentration von 10^{-6} M Cd ausgesetzt wurden, eine deutlich reduzierte Insulinsekretion hatten.

Im Tierversuch zeigten die β -Inselzellen von Mäusen, denen einmal 2 mg Cadmiumacetat pro kg injiziert wurde, auf Glukosereiz hin nur halb so viel Insulinsekretion wie Kontrolltiere. Bei Mäusen, die mit Cadmium vorbehandelt waren, war die Insulinsekretion nahezu normal.

Während die Metallothionein-Synthese in der Leber 3 Stunden nach Verabreichung von Cadmium begann und nach 48 Stunden einen Gipfel zeigte, stieg die Metallothionein-Konzentration im Pankreas sofort an und erreichte mit 1,8 µg gebundenem Cadmium pro mg Protein bereits nach 6 Stunden einen Gipfel. Es ist unwahrscheinlich, daß das Metallothionein von der Leber kommt, da diese erst 3 Stunden post injectionem mit der Synthese von Metallothionein beginnt, während in der Bauchspeicheldrüse bereits nach 1 1/2 Stunden eine hohe MT-Konzentration herrscht. Die Nierensynthese beginnt zwar schon nach 1/2 Stunde, jedoch wären die Mengen, die synthetisiert werden, zu gering, um die Konzentration von Metallothionein im Pankreas zu erreichen.

Yau und Mennear (1977) vermuten deshalb, daß Metallothionein in der Bauchspeicheldrüse synthetisiert wird und diese vor toxischen Cadmium-Einflüssen schützt; das unterstützt die Hypothese der Schutzfunktion des Metallothioneins. Wo im Pankreas MT synthetisiert wird, ist unbekannt, jedoch sicherlich nicht spezifisch in β -Zellen, weil in durch Alloxan geschädigten Bauchspeicheldrüsen von Mäusen bei 99-%iger Zerstörung der β -Zellen immer noch auf Cadmium-Reiz hin Metallothionein synthetisiert wurde.

d) Cadmiumthionein im Blut

Über die Transportfunktion des Metallothioneins herrschen unterschiedliche Auffassungen. Während Piscator und Pettersson (1977) sowie Nordberg (1978) es für wahrscheinlich halten, daß Metallothionein das Transportprotein für Cadmium im Blut ist, hält Cherian (1977 a) dies für unwahrscheinlich; auch Chen et al. (1977) behaupten, daß MT extrazellulär keine Transportfunktion hat, da es weder im Plasma noch im Urin noch in der Galle unter physiologischen Umständen gefunden wurde; auch für Zink habe es keine Transportfunktion. Nach Piscator zeigt sich eine frische Belastung des Organismus mit Cadmium an einem erhöhten Cd-Blutspiegel.

Zwischen 4 bis 24 Stunden vollzieht sich eine rasche Entfernung des Cadmiums aus dem Plasma.

Während zunächst mehr Cadmium an Hämoglobin gebunden ist, folgt nach einiger Zeit eine Neuverteilung zur Metallothionein-Fraktion, und zwar zu einer Form von Metallothionein, welche auch Zink enthält. Nordberg (1978) Nordberg vermutet weiterhin, daß Cadmium deshalb verzögert an MT gebunden transportiert wird, weil erst nach einiger Zeit die Synthese von MT in der Leber einsetzt. Ist dann Metallothionein vorhanden, so wird das meiste Cadmium als Cadmiumthionein an den Erythrozyten gebunden transportiert; nur wenig Cd wird im Plasma an Proteine ähnlichen Molekulargewichts wie Albumin transportiert.

Cherian (1977 a), der Metallothionein nicht als Transportprotein sieht, vermutet, daß es sich bei der Bindung von Cadmiumthionein an die roten Blutzellen nach einer Cadmiumchlorid-Injektion um eine Membranadsorption handelt. Eine mögliche Rolle beim extrazellulären Transport hält Cherian wegen der Toxizität des Cadmiumthioneins für unwahrscheinlich.

In Übereinstimmung mit Chen et al. (1977) behauptet Cherian (1978), daß Metallothionein normalerweise unter physiologischen Umständen nicht in biologischen Flüssigkeiten anwesend ist und auch keine Transportfunktion für Cadmium von der Leber zur Niere hat.

Eine Transportfunktion von der Leber zur Galle kann Metallothionein nach Cherian (1977 a) auch nicht haben, da Cadmium in der Galle an niedermolekulare Proteine als MT gebunden ist; nach Goyer und Cherian (1977) ist Cadmium in der Galle an Cystein und Glutathion gebunden.

Klaasen (1978) hat in seinen Experimenten herausgefunden, daß bei Ratten, nachdem Metallothionein induziert wurde, verschiedene Metalle erheblich schlechter über die Galle ausgeschieden wurden. Die Cadmium-Ausscheidung über die Galle bei vorbehandelten Ratten ging um 99 % zurück, die von Kupfer, Quecksilber, Zink und Silber 2 Stunden nach Verabreichung um 55 - 65 %. Er behauptet, daß Metalle nicht mehr so leicht über die Galle ausgeschieden werden, sobald sie an Metallothionein gebunden sind, was auch die lange biologische Halbwertszeit von MT-gebundenen Metallen erklären würde.

Nach den Untersuchungen von Klaasen trägt Metallothionein, durch Vorbehandlung induziert, nicht dazu bei, Metalle aus dem Plasma zu entfernen. Die Vermutung von Roosemont (1973), daß sich Ascorbinsäure auf Metallothionein im Plasma auswirkt, weil im Experiment durch Ascorbinsäure eine Abnahme der Thiolkonzentration beobachtet wurde, konnte nicht bestätigt werden. Aus den Untersuchungen geht hervor, daß Cadmium im Plasma und an Erythrozyten gebunden vorhanden ist. Ob jedoch Metallothionein eine Transportfunktion im Blut hat, ähnlich wie Transferrin bei Eisen, bedarf noch genauerer Untersuchungen.

e) Cadmiumthionein im Darm

Auch in den proximalen Darmabschnitten - im Duodenum und im Jejunum - wird Metallothionein synthetisiert.

Valberg (1977) beschreibt einen Schutzmechanismus, wobei bei der Absorption in der Mukosazelle Cadmium an Metallothionein gebunden wird. Cadmium bleibt als Cadmiumthionein-Komplex untoxisch in der Zelle und wird durch Abschilferung der Epithelzelle ins Darmlumen abgegeben und ausgeschieden. Durch diesen Schutzmechanismus gelangen nur etwa 5 % des enteral verabreichten Cadmiums in den Blutkreislauf.

Auch Squibb et al. (1976) vermuten, daß der Darm durch Metallothionein bei geringer oraler Cadmium-Belastung mitwirken könne, die Absorption von Cd zu verhindern. Da beim Darm die MT-Menge bei vorbehandelten und nicht vorbehandelten Tieren nahezu gleich war, wird angenommen, daß im Darm die Synthese von Metallothionein schneller vor sich geht.

Auch bei der Aufnahme von Zink spielt das Metallothionein der Darmmukosazelle eine wesentliche Rolle. Hier konkurriert MT mit einem niedermolekularen Protein, welches die Absorption von Zink begünstigt, und bindet überschüssiges Zink, um dieses, ebenso wie Cadmium, durch Abschilferung der Mukosazelle vom Blutkreislauf fernzuhalten.

Valberg (1977) untersuchte weiterhin, inwieweit Cadmiumchlorid und Cadmiumthionein den Darm schädigen. Dazu wurden Duodenum und Jejunum von Mäusen, die mit eisenarmer Diät ernährt wurden, eine Stunde lang mit Lösungen von $100 \mu\text{M}$ CdCl_2 oder CdTh (gleiche Mengen Cd) perfundiert. Von $22,4 \mu\text{g}$ appliziertem CdCl_2 kamen $6,6 \mu\text{g}$ in die Darmmukosa und nur $0,26 \mu\text{g}$ in den Körper. Bei der äquivalenten Menge CdTh gelangten $5,8 \mu\text{g}$ Cd in die Darmmukosa, jedoch lediglich $0,1 \mu\text{g}$ Cd in den Blutkreislauf.

Nach der Verabreichung von Cadmiumchlorid waren die Zotten verkürzt, das Epithel enthielt zahlreiche Vakuolen - vornehmlich vergrößerte Interzellularräume. In den unteren zwei Dritteln der Zotten waren die Mitochondrien der Absorptionszellen geschwollen.

Die Applikation von Cadmiumthionein führte zur Verkürzung der Zotten mit Nekrose des äußeren Teils. Die Mikrovilli waren zerrissen, der zytoplasmatische Inhalt geschwollen. Die Mitochondrien verloren ihre Cristae, und das endoplasmatische Retikulum war stark erweitert.

Absorptionszellen waren für die toxische Wirkung besonders anfällig, die Panethzellen waren hingegen resistent. Die Schäden durch Cadmiumthionein an den Zellen waren so schwer, daß die Reihenfolge der intrazellulären Vorgänge nicht rekonstruierbar war.

Durch Ascorbinsäure wurde die Toxizität gemildert bis verhindert, und ohne Eisenmangeldiät traten die Schäden erst bei höheren Konzentrationen auf. Übereinstimmend hiermit schreiben Goyer und Cherian (1977), daß Calcium- und Eisenmangel die Cadmium-Toxizität erhöht, während Zink, Selen und Kupfer vor Cadmium-Toxizität schützen.

Cadmium konkurriert mit Calcium um die Bindungsplätze in der Mukosa. Valberg (1977) vermutet, daß durch Calcium-Entleerung die interzelluläre Haftung verändert werden kann; deshalb könnten sich die Zellränder getrennt haben, weil Calcium durch Cadmium verdrängt wurde.

Als Indikatoren für akute Cadmiumvergiftung sieht Valberg die Änderung der Zellorganellen einschließlich der Auflösung interzellulärer Bindungen sowie Mitochondrienschwellung, die ausreicht, der Zelle z.B. die Energie zum Transport für Eisen zu entziehen. Später folgt noch eine Strukturumwandlung der Mikrovilli.

Dieser toxische Effekt des Cadmiumthioneins auf die Darmmukosa ähnelt dem des CdTh auf die Nierentubuluszellen und zeigt wieder die paradoxe Rolle des Metallothioneins: Einmal schützt es die Leber und den Darm vor dem toxischen Cd^{2+} -Ion in der Zelle, zum anderen ist Cadmiumthionein im Extrazellularraum oder Darmlumen hochgiftig für Gewebe wie Nierentubuli oder Darmmukosa.

f) Cadmiumthionein in der Leber

Auf den Reiz des Metalls Cadmium, ebenso wie verschiedener anderer Metalle, beginnt in der Leber nach etwa 2 1/2 bis 3 Stunden die Synthese des niedermolekularen Proteins Metallothionein, das eine nachfolgende Dosis Cadmium binden kann und so Wechselwirkungen mit lebenden Makromolekülen verhindert. Neben Sugibb et al. (1976) kommen fast alle Autoren zu dem Ergebnis, daß die Hauptfunktion des Metallothioneins die Entgiftung von Schwermetallen ist.

Bei Verabreichung von Cadmium als Cadmiumchlorid ist die Leber das Zielorgan, bei Cd-Verabreichung als Cadmiumthionein dagegen die Niere. Nordberg (1978)

Cherian (1977 a) fand, daß bei Ratten, die mit 0,25 mg CdCl_2 pro kg Lebendgewicht i.p. vorbehandelt wurden, nach CdCl_2 -Gabe die Anhäufung von Cd im Lebergewebe erhöht, in den Nieren mit nur 2 % der Dosis jedoch unverändert war. Im Vergleich zu nicht vorbehandelten Tieren ging dabei die Ausscheidung von Cadmium über die Galle zurück.

Wenn Metallothionein einmal in den Hepatozyten synthetisiert ist, kann es nur schwer diffundieren. Goyer und Cherian (1977) fanden in Übereinstimmung mit anderen Autoren, daß sowohl nach Cadmiumchlorid-Injektion als auch nach Cadmiumthionein-Injektion das meiste Cadmium in der löslichen Zytoplasmafraktion zu finden war; weniger als 20 % waren im Zellkern.

Nach Leber und Miya (1976) ist in Mäuselebern von nicht vorbehandelten Tieren in den ersten drei Stunden nach subkutaner Verabreichung von Cadmiumacetat kein Cadmium an Metallothionein sondern vorerst nur an hochmolekulare Proteine gebunden. Nach etwa drei Stunden setzt dann langsam die Synthese von MT ein, die nach Day et al. (1978) nach 18 Stunden den Höhepunkt erreicht hat. Er beziffert die Halbwertszeit des MT in der Leber mit 6,8 Tagen.

Squibb et al. (1977) fanden, daß nach oraler Verabreichung von 100 mg Cadmiumchlorid pro kg in der Rattenleber nach einer Stunde alles Cd an hochmolekulare Proteine gebunden war, nach 3 Stunden war bereits ein großer Teil des Cadmiums als Cadmiumthionein vorhanden und nach 5 Stunden war alles Cd in der Zytosolfraction an Metallothionein gebunden; die Synthese von MT stagnierte daraufhin.

Probst et al. (1977) kommen bei ihren Experimenten mit Mäusen, denen i. p. 0,2 mg, 0,6 mg und 2,0 mg Cadmiumacetat pro kg verabreicht wurde, zu dem Schluß, daß ein Schwellenwert überschritten werden muß, ehe genügend Metallothionein von der Leber synthetisiert wird, um Schutz vor akuter Cadmium-Vergiftung zu bieten. So war bei den Mäusen, die die Einzeldosis von 0,2 mg Cd pro kg erhalten hatten, auch nach 48 Stunden kein wesentlicher Unterschied in der Leber-MT-Konzentration zu den Kontrolltieren festzustellen, während die Tiere, die 0,6 mg Cd pro kg erhalten hatten, schon einen deutlichen Anstieg der MT-Konzentration in der Leber zeigten; noch mehr MT war in den Lebern der Tiere, die 2,0 mg Cadmiumacetat pro kg verabreicht bekommen hatten.

Die Autoren sehen hierin einen dosisabhängigen Anstieg der Leber-MT-Konzentration und damit eine lineare Beziehung zwischen der Dosis der Cadmium-Vorbehandlung und Bindungskapazität des Lebermetallothioneins bei nachfolgender hoher Cadmium-Verabreichung.

Dieser Meinung sind auch Leber und Miya (1976). Sie kommen außerdem zu dem Schluß, daß durch Zinkvorbehandlung vor Cadmium-Toxizität geschützt werden kann; Cadmium verdrängt wegen seiner erheblich größeren Affinität zu Metallothionein das Zink vom Zinkthionein und es entsteht untoxisches Cadmiumthionein und Zink.

In Lebern von Mäusen, die mit 19,5 mg Zink pro kg vorbehandelt worden waren, wurde Zink von Metallothionein als Zinkthionein gebunden. Nach Applikation von 10 mg Cadmium pro kg waren 65 % des an Metallothionein gebundenen Zinks durch Cadmium verdrängt worden. Sowohl in vitro als auch in vivo wurde dieses Ergebnis bestätigt. Demnach bietet auch die Vorbehandlung mit Zink einen Schutz vor akuter Cadmium-Vergiftung. Nach Webb und Verschoye (1976) währt der Schutz vor akuter Vergiftung durch Vorbehandlung nur maximal 1 - 3 Tage und nimmt dann ab. So waren Ratten, denen intravenös 1,0 mg CdCl_2 /kg verabreicht wurde, 3 Tage resistent gegen eine normal letale Dosis von 4,5 mg Cd pro kg. Leber, Niere, Milz und Pankreas blieben normal, es wurde keine Proteinurie beobachtet. Nach 7 Tagen starben bei der Verabreichung von 4,5 mg CdCl_2 pro kg jedoch bereits 4 von 8 Tieren. In der folgenden Aufstellung von Webb und Verschoye (1976) zeigt sich die Wirkung von Cadmium-Vorbehandlung auf die Toxizität von Cadmium.

Tabelle 2: Die Wirkung von Cd^{++} -Vorbehandlung auf die Toxizität von Cd^{++}

Tage nach Vor- behandlung mit 1 mg Cd^{++} /kg	Mortalität nach i. v. Verabrei- chung von 4,5 mg Cd^{++} /kg	Cd^{++} -Gehalt als CdTh im Leber- gewebe ($\mu\text{g Cd}^{++}$ /g Naßgewicht)
1	2 von 8	11,3
3	2 von 8	9,7
7	4 von 8	10,6
10	5 von 8	11,6
Kontrolltiere	8 von 8	0,0

Bemerkenswert ist, daß zwar der Schutz gegen die tödliche Dosis abnahm, jedoch der Metallothionein-Gehalt in der Leber auch nach 10 Tagen konstant war, ebenso wie die Kapazität zur Metallothionein-Synthese. So hat also der Verlust der Schutzwirkung nach 10 Tagen mit dem Absinken des MT-Spiegels in der Leber nichts zu tun, auch nicht mit der Abnahme der Kapazität, Metallothionein zu synthetisieren.

Webb kommt zu dem Schluß, daß eine länger vorausgegangene Induktion von Metallothionein keinen Einfluß auf eine akut auftretende Cadmium-vergiftung hat. Durch Hunger - Bremner und Davies (1975) - in der Leber induziertes Zinkthionein bietet nach Webb und Verschoye (1976) keinen Schutz vor akuter Cadmiumvergiftung. Nach Leber und Miya (1976) schützt aber Zinkthionein, durch Zn^{++} induziert, vor akuter Cadmium-Toxizität. Webb und Etienne (1977) prüften auch, ob durch eine Leberzellenschädigung eine Veränderung der Cadmium-Konzentrationen hervorgerufen wurde. Ratten erhielten 8 - 32 mg Cd^{++} /kg subkutan über 5 Tage bis 3 Wochen, wodurch bis zu 430 μg Cd^{++} /g Naßgewicht in der Leber akkumulierte. Nun setzte man die Tiere 4 Stunden lang dem Leberzellgift Tetrachlor-kohlenstoff aus (32 mg CCl_4 /l Luft). Man wollte ermitteln, ob Leber-schädigung die Freisetzung von Cd^{++} aus CdTh zur Folge hätte und Cd^{++} zur Niere transportiert würde. Jedoch zeigten sich bei den mit Hepato-toxinen behandelten Ratten keine Unterschiede zu den Kontrolltieren.

Aus den Untersuchungen geht hervor, daß die Leber eine äußerst wichtige Rolle bei der Verstoffwechslung von Cd^{++} spielt, und daß hier die wichtigste Stelle für die Cd-induzierte Metallothionein-Synthese liegt, die Voraussetzung zum Schutz gegen akute Cadmium-Toxizität. Probst (1977) Eine Verteilungsdarstellung von Webb und Verschoye (1976) bestätigt dieses Ergebnis.

Tabelle 3: Die Aufnahme von ^{109}Cd nach intravenöser Verabreichung von 1 mg $^{109}Cd^{++}$ /kg vor 6 Stunden durch verschiedene Gewebe bei Ratten, die 9 Tage lang mit Cd vorbehandelt wurden und bei nicht vorbehandelten Kontrolltieren in ng Cd pro g Naßgewicht des Organs

Gewebe	Kontrolltiere	vorbehandelte Tiere
Leber	4105 $\pm$ 5	5668 $\pm$ 32
Niere	1123 $\pm$ 44	1032 $\pm$ 70
Pan kreas	1024 $\pm$ 26	1022 $\pm$ 16
Milz	403 $\pm$ 10	388 $\pm$ 10
Herz	191 $\pm$ 1	234 $\pm$ 6
Gehirn	34 $\pm$ 2	30 $\pm$ 1

g) Cadmiumthionein in der Niere

Während bei der Verabreichung von Cadmiumchlorid die Leber das Zielorgan ist, ist bei der Gabe von Cadmiumthionein niemals ein Leberschaden beobachtet worden; das Zielorgan von Cadmiumthionein scheint die Niere zu sein. Hierbei ist nach Nordberg et al. (1975) Cadmiumthionein fünfmal, nach Webb und Etienne (1977) achtmal so toxisch wie Cadmiumchlorid. Da bei der Applikation von CdCl_2 keine Nierenzellschäden beobachtet wurden, beschränken sich die Untersuchungen in erster Linie auf die Reaktionen der Niere auf CdTh.

Nordberg et al. (1975) stellten fest, daß eine Dosis von 1,5 mg CdTh /kg über mehrere Wochen letal ist. Bei nicht tödlichen Dosen wurden so gut wie keine klinischen Zeichen für Toxizität bemerkt, während bei tödlichen Dosen erst Müdigkeit und erhöhte Atemfrequenz der Tiere vor dem Tod beobachtet wurden; hierbei war subkutan verabreichtes Metallothionein toxischer als intravenös appliziertes MT.

Die Nieren der mit Cadmiumthionein behandelten Mäuse waren blaß und ödematös, Oligurie wurde beobachtet; außerdem ging die Kreatininausscheidung zurück.

Bemerkenswert ist, daß auch die Injektion von an Cystein gebundenem Cadmium ähnlich schwere Nierenschäden wie Cadmiumthionein hervorruft - Nordberg et al. (1975), während die Injektion von Zinkthionein gänzlich untoxisch bleibt, obgleich Zinkthionein in den physikalischen und chemischen Eigenschaften dem Cadmiumthionein sehr ähnelt. Webb und Etienne (1977) konnten sogar feststellen, daß eine Verabreichung von 2,4 mg ZnTh /kg gegen eine tödliche Dosis von 0,4 mg CdTh /kg Schutz bietet. Auch Cherian (1978) kommt zu dem Ergebnis, daß Zinkthionein nicht nephrotoxisch wirkt.

Übereinstimmend stellen die Autoren fest, daß Cadmiumthionein die meisten Schäden an den Zellen der gewundenen proximalen Segmente der Nierentubuli verursacht, während Blutgefäße und Glomeruli normal blieben. Auch hängen die toxischen Wirkungen davon ab, wieviel CdTh verabreicht wurde; wenig CdTh zeigte in etwa dieselben Effekte wie lang dauernde Exposition durch CdCl_2 .

Der Grund hierfür kann sein, daß bei lang dauernder Verabreichung von Cadmiumchlorid ein Schwellenwert der Kapazität für intrazelluläres Cadmiumthionein überschritten wird und somit CdTh ins extrazelluläre Milieu gelangt, wo es die toxischen Wirkungen zeigt.

Cherian et al. (1976) vermuten deshalb, daß Metallothionein nur intrazellulär vorhanden ist und die Zelle vor Metallionen schützt. Da Cadmiumthionein extrazellulär normal nicht vorhanden ist, erklärt dies die Cadmium-Toxizität im Plasma und im glomerulären Filtrat, die bei Cd-Belastung plötzlich auftreten kann, wenn die Cadmiumthionein-Konzentration in der Leber zu hoch wird, und CdTh aus den geschädigten Zellen ins Plasma gerät. Cherian meint, daß diese Tatsache gegen eine mögliche Transportfunktion von Metallothionein für Cadmium von der Leber zur Niere spricht.

Bei der Applikation von 1,2 mg CdTh /kg i.p. bei Ratten konnten Cherian et al. (1976) bereits nach 4 Stunden Vakuolen und Mitochondrienschwellungen in den proximalen Tubuluszellen feststellen. Nach 8 Stunden reichten die Vakuolen bis zur Zellbasis, nach 12 Stunden waren Herde in den geschwollenen Mitochondrien, die Zellmembran war zerrissen, und nach 24 Stunden war es zu massiver Tubenzellnekrose mit irreversiblen Mitochondrienschäden gekommen.

Der Zelltod erfolgt entweder durch Mitochondrienschädigung und damit verbundener Blockierung des Energiestoffwechsels oder durch Zerstörung der Zellmembran wegen unkontrollierter Pinozytose, da der interzelluläre Transport von Cadmiumthionein - es ist im Gegensatz zu Cadmium ein Makromolekül - durch Pinozytose auf der Oberfläche der Tubuluszellen vor sich geht.

Die toxischen Wirkungen, so meint Cherian weiterhin, sind nicht auf das freie Cd^{++} -Ion, sondern auf die Wirkungen des Cadmiumthionein-Komplexes zurückzuführen.

Webb und Etienne (1977) vermuten genau das Gegenteil, nämlich, daß die hohe Toxizität des Cadmiumthioneins auf Freisetzung des Cd^{++} -Ions beruht. Seiner Meinung nach wird der Proteinanteil abgebaut und teils als Metallothionein, teils aber auch in Form von kleineren Molekülen mit dem Harn ausgeschieden.

Auch Cherian fand, daß der Proteinanteil des CdTh in der Niere verstoffwechselt wird, jedoch wurde seiner Meinung nach auf den Reiz des CdTh hin in der Niere wieder neues MT synthetisiert, und über 90 % des Cd blieb ständig an MT gebunden.

Auch Nordberg (1978) kommt in ihren Untersuchungen zu dem Ergebnis, daß Cadmium in der Niere ständig an Metallothionein gebunden ist, und daß nach der Aufnahme von Cadmiumthionein aus dem Plasma in der Niere neues Metallothionein synthetisiert wird; ihrer Meinung nach sind die Schäden des CdTh in der Niere auf den Proteinanteil des CdTh zurückzuführen.

Bezüglich der Wirkungen des CdTh-Komplexes auf die proximalen Nierentubuluszellen stimmen die Untersuchungen der Autoren weitgehend überein, jedoch bedarf es noch eingehender Forschungen über die Ursachen der Zellnekrosen, nämlich, ob dies auf das freie Kation oder auf den Metall-Proteinkomplex zurückzuführen ist.

Bemerkenswert ist noch eine Untersuchung von Cherian et al. (1976) über die Gewebsverteilung von ^{109}Cd nach Injektion von 1,2 mg Cd als $^{109}\text{CdCl}_2$ oder $^{109}\text{CdTh}$:

Tabelle 4: Die Verteilung radioaktiv markierten Cadmiums in Geweben bzw. Körperflüssigkeiten nach Injektion als Cadmiumchlorid oder Cadmiumthionein

Organ, Körperflüssigkeit	$^{109}\text{CdCl}_2$	$^{109}\text{CdTh}$
Leber	$64,4 \begin{smallmatrix} + \\ - \end{smallmatrix} 10,87$	$11,2 \begin{smallmatrix} + \\ - \end{smallmatrix} 2,24$
Niere	$1,8 \begin{smallmatrix} + \\ - \end{smallmatrix} 0,08$	$36,7 \begin{smallmatrix} + \\ - \end{smallmatrix} 1,22$
Milz	$0,5 \begin{smallmatrix} + \\ - \end{smallmatrix} 0,14$	$0,4 \begin{smallmatrix} + \\ - \end{smallmatrix} 0,15$
Pankreas	$4,4 \begin{smallmatrix} + \\ - \end{smallmatrix} 2,88$	$0,2 \begin{smallmatrix} + \\ - \end{smallmatrix} 0,04$
Gehirn	-----	$0,05$
Hoden	$0,31 \begin{smallmatrix} + \\ - \end{smallmatrix} 0,07$	$0,16 \begin{smallmatrix} + \\ - \end{smallmatrix} 0,05$
Urin	$0,01 \begin{smallmatrix} + \\ - \end{smallmatrix} 0,01$	$19,30 \begin{smallmatrix} + \\ - \end{smallmatrix} 2,94$

Angabe in Prozent der Radioaktivität der Gesamtdosis des verabreichten Cadmiums

2. Wechselwirkungen von Zink (Zn) mit Metallothionein

Zink (Atomgewicht 65,37) ist wie Cadmium und Quecksilber ein II b-Gruppenelement. Es hat über einer mit 10 Elektronen vollständig gefüllten $(n-1)d$ -Bahn 2 ns^2 Elektronen in der äußersten Schale.

Zink kommt in der Natur hauptsächlich in Sulfiden - Zinkblende ZnS - und als Carbonat, Sulfat oder Oxyd gebunden vor. Die Häufigkeit liegt mit 0,013 % dabei weit über der der anderen II b-Elemente.

Reines Zink dient hauptsächlich zum Verzinken von Eisen (Rostschutz) und zur Herstellung von Dachrinnen und Dachbedeckungen. Praktisch spielt es auch eine Rolle als Lösungselektrode in galvanischen Elementen bei Batterien. Seine wichtigste Legierung ist Messing mit etwa 35 % Zink und 65 % Kupfer. Schmidt (1961)

Im Säugetierorganismus ist Zink ein essentielles Spurenelement und für Wachstum und regelrechte Funktion des Stoffwechsels notwendig. Der Gesamtbestand im Menschen beträgt 4 g, der Bedarf 10 - 15 mg pro Tag. Das Serumzink (100 - 120 μg /100 ml) ist zu etwa 35 % an Proteine gebunden. Zink ist in allen Organen in einer Konzentration von etwa 50 μg /g Frischgewicht enthalten und Bestandteil zahlreicher Enzyme (z. B. Alkohol-Dehydrogenase). Der Zinkgehalt der Erythrozyten beträgt 0,7 - 1,3, der der Leukozyten bis zu 30 mg /10¹² Zellen. Hohe Zinkkonzentrationen - bis 1 000 μg Zn /g Frischgewebe - wurden in den Inselzellen des Pankreas gefunden. Im Tierexperiment verursacht Zinkmangel Haarausfall und Parakeratose. Buddecke (1974)

Da nun Zink an Metallothionein gebunden wird und sowohl oral als auch parenteral verabreicht die Neusynthese von Metallothionein induziert - Feldman und Cousins (1976) -, wird von mehreren Autoren eine Rolle des Metallothioneins im Zinkmetabolismus vermutet.

Chen et al. (1977) sehen dagegen die Rolle des Metallothioneins lediglich darin, überschüssiges Zink zu speichern und dessen mögliche toxischen Wirkungen zu verhindern. Ihrer Meinung nach spielt Metallothionein keine Rolle bei Lagerung, Bereitstellung oder dem Transport von Zink.

a) Zinkthionein im Darm

Nach den Untersuchungen von Richards und Cousins (1975, 1976, 1977) wird in der Darmmukosazelle ein zinkbindendes Protein synthetisiert, das durch parenteral verabreichtes Zink induziert wird und oral appliziertes Zink bindet. Mittels DEAE-Chromatographie identifizierte man das Protein als Metallothionein, dessen Molekulargewicht aber möglicherweise größer ist als von Leber- oder Nierenmetallothionein. Der Metallgehalt betrug 5,0 - 5,6 g-Atom Zn^{++} pro Mol Protein.

Durch Actinomycin D läßt sich die Induktion der Synthese von Zinkthionein in Darm und Leber verhindern, wenn dieses vor dem Metall verabreicht wird. Day et al. (1978)

Richards und Cousins (1976) vermuten, daß die Plasmazinkkonzentrationen über die Transskriptionsphase auf die Metallothionein-Synthese in Leber und Darm wirken und so die Zinkhomöostase regeln. Durch einen hohen Plasmazinkspiegel wird die Absorption von Zink dadurch vermindert, daß das vermehrt gebildete Metallothionein in der Mukosazelle das überschüssige Zink bindet und daran hindert, ins Serum zu gelangen. Das Zinkthionein bleibt in der Mukosazelle gebunden, gelangt durch Epithelabschilferung ins Darmlumen und wird ausgeschieden.

Normalerweise konkurriert Metallothionein in der Mukosazelle mit einem Liganden zur Zinkabsorption. Überschreitet die Zinkkonzentration die Kapazität dieses Liganden, so wird das überschüssige Zink von Metallothionein gebunden. Bei Bedarf erhöht sich die Metallothionein-Synthese über einen Regelmechanismus auf der Stufe der Transskription, was durch Versuche mit Actinomycin D auch von Richards und Cousins (1975) experimentell erhärtet wurde.

Nach Evans (1973) ist Metallothionein nicht in den Absorptionsprozeß verwickelt, da es in der Darmmukosa von Ratten bei Zinkmangel, wo hohe Absorptionsraten herrschten, nicht gefunden wurde. Seiner Meinung nach wird die Zinkabsorption durch Wechselwirkung eines kleinen Liganden der Mukosa und Sättigung von Albumin und Transferrin geregelt.

Eine Transportfunktion hat Metallothionein als Zinkthionein nach den Aussagen von Feldman und Cousins (1976) sowie Chen et al. (1977) nicht. Feldman konnte kein Zinkthionein im Blut finden. Auch Chen konnte weder im Plasma noch in der Galle oder im Urin unter physiologischen Umständen Zinkthionein nachweisen. Daß von anderen Autoren ZnTh im Urin gefunden wurde, liegt seiner Meinung nach daran, daß unphysiologisch hohe Dosen verabreicht wurden. Es handelte sich dann um toxische Effekte. Im Serum war Zink zu 40 % an ein Makroglobulin gebunden.

b) Zinkthionein in der Leber

Bei erhöhtem Zinkplasmaspiegel wird in der Leber vermehrt Metallothionein synthetisiert und Zink als Zinkthionein gebunden. Bereits 18 Stunden nach Verabreichung von 5 mg Zinksulfat pro kg an Ratten beobachteten Day et al. (1978) einen Konzentrationsgipfel von ZnTh in der Leber und ermittelten eine Halbwertszeit von 10,1 Stunden.

Bei der Verabreichung von 1 mg Actinomycin D /kg nach 18 Stunden blieb dagegen der Konzentrationsgipfel bis 23 Stunden nach der Applikation bestehen. Diese Superinduktion wurde von Day nur bei Zinkthionein beobachtet. Auch Bremner und Davies (1975) konnten 18 Stunden nach Verabreichung von 300 µg Zink als ZnSO_4 bei Ratten eine maximale Erhöhung des Zinks in der Leber auf 9,8 µg Zn /g Frischgewicht beobachten, wobei 25 % an Metallothionein gebunden waren. Normalerweise sind nur 1,5 % des gesamten Leberzinks an MT gebunden, und das meiste Zink befindet sich an hochmolekularen Proteinen.

Bremner konnte sowohl nach Injektionen von ZnSO_4 als auch bei Hunger zwei Formen ZnTh nachweisen, die in der Aminosäurezusammensetzung und in den Eigenschaften etwas verschieden waren.

Nach Oh et al. (1978 a) spricht der rasche Abbau von Zinkthionein dafür, daß das Protein mit in eine regulierende Funktion verwickelt ist. Die schnelle Induktion der Metallothionein-Synthese durch Zink und die permanente Bindung bis zum Abbau lassen Oh vermuten, daß Zink ein integrierter Teil des Proteins ist, da bisher kein zinkfreies Metallothionein in Geweben gefunden wurde.

Auch Bremner und Davies (1975) nehmen an, daß Zink dazu beiträgt, das Apoprotein Metallothionein zu bilden und zu stabilisieren, insbesondere deswegen, weil Zink auch auf verschiedene andere Makromoleküle und Enzyme einen Stabilisierungseffekt ausübt. Ihrer Meinung nach ist Metallothionein physiologisch bei dem Zinkmetabolismus beteiligt, und die Bindungen mit Cadmium und Quecksilber sind wegen der chemischen Ähnlichkeit der Elemente rein zufällig.

Cherian (1977 b) vermutet, daß Zinkthionein im Zinkstoffwechsel eine Rolle spielt, indem es überschüssige Zink-Ionen bindet und damit deren Toxizität verhindert und weiterhin als Lagerungsprotein für überschüssiges Zink fungiert, welches bei Bedarf wieder bereitgestellt werden kann. Es nähme so im Zinkstoffwechsel die Rolle des Ferritins im Eisenstoffwechsel ein.

Mit Ferritin vergleichen auch Sobocinski et al. (1978) das Metallothionein im Zinkstoffwechsel. Sie untersuchten die MT-Spiegel der Leber bei bakteriellen Infektionen mit *S. typhimurium* und *F. tularensis*, wodurch die Halbwertszeiten auf 19 bzw. 38 Stunden verlängert wurden. Während die Tiere an den Infektionskrankheiten litten, war die MT-Synthese in der Leber so lange erhöht, bis sich das Tier von der Krankheit erholt hatte. Metallothionein ist demzufolge ein Zwischenglied bei der Neuverteilung des Zinks vom Plasma zur Leber bei Infektionskrankheiten und Endotoxämie, da in diesen Fällen die Zinkabsorption im Darm erhöht ist. Sobocinski vermutet, daß Zink die RNS-Translation beeinflusst, um zusätzliche MT-Synthese zu bewirken.

Aber nach Richards und Cousins (1975) wirken die Plasmazinkkonzentrationen über die Transskription auf die Synthese von Metallothionein in der Leber, wobei dieser Mechanismus sehr schnell wirkt - auch bei Änderung des Zinkspiegels in der Nahrung und bei Hunger.

Oh et al. (1978 b) stellten fest, daß bei künstlich erzeugtem Streß (Kälte, Anstrengungen, Tetrachlorkohlenstoffvergiftung), der mit einer Änderung der Zinkverteilung im Körper einhergeht, die Metallothionein-Synthese in der Leber von Ratten erhöht war.

Bei Anstrengungen war die Metallothionein-Synthese in der Leber um 302 %, bei Kälte um 315 % und bei Tetrachlorkohlenstoff-Injektion um 543 % erhöht, während in der Niere nur bei CCl_4 eine um 30 % erhöhte Syntheserate von Metallothionein festgestellt wurde.

Bei akutem Streß, Entzündungen und Infektionskrankheiten sinkt der Zink-plasmaspiegel, und in der Leber wird die Synthese von Metallothionein induziert, entweder, weil die Tiere in ein negatives Energiegleichgewicht geraten und u.a. zinkbindende Proteine katabolisieren, was zur Freisetzung von MT-induzierendem Zink führt, oder weil der Beginn der MT-Synthese - durch Streß ausgelöst - zur Zinkmobilisation führt und die Umverteilung des Plasmazinks zur Leber bewirkt. Das zur Leber bewegte Zink wurde nach Oh et al. (1977 b) nur an die MT-Fraktion und nicht an andere hochmolekulare Proteinfractionen gebunden.

Eine entgegengesetzte Auffassung über die Rolle des Metallothioneins vertreten Chen et al. (1977), die Versuche mit Ratten machten, denen sie oral 2 Wochen lang 100 ppm, 500 ppm, 1 000 ppm und 2 000 ppm Zink als Zinkacetat verabreichten.

Bei der Diät mit 100 ppm Zink, der 8-fachen Menge dessen, was zum Wachstum notwendig ist, zeigte sich keine Anhäufung des Elements in den Lebermetallothioneinen. Erst ab 1 000 ppm Zink begann sich das Metall ausschließlich an Metallothionein in der Leber zu binden, und erst bei 2 000 ppm konnte man eine rasche Anhäufung in der Leber und der Niere an MT beobachten. Bei der Diät mit 2 000 ppm Zink wurden in der Leber 60 $\mu\text{g Zn/g}$ Frischgewicht ermittelt. Bei dieser Anhäufung war nur an die MT-Fractionen mehr Zink gebunden, nicht an andere hochmolekulare Proteinfractionen.

Nach 3 Tagen Mangel diät, anschließend an die 14-tägige Diät mit 2 000 ppm Zink, waren die Zinkdepots, die an Metallothionein gebunden waren, schon wieder abgebaut und mit Urin und Fäzes ausgeschieden.

Auf Grund dieser Beobachtungen nimmt Chen an, daß Metallothionein keine biologische Funktion zur Anhäufung und Lagerung von Zink hat.

Zink wurde zu schnell vom Zinkthionein-Komplex entfernt, um eine wirksame Nutzung zu ermöglichen und wurde trotz der Mangeldiät in großen Mengen mit Fäzes und Urin ausgeschieden. Chen glaubt, daß Metallothionein im Zinkstoffwechsel nur überschüssiges Metall anhäuft, vorübergehend bindet, um toxische Wirkungen zu verhindern und es dann zur Ausscheidung bringt.

Die Menge Zink, die physiologisch als Zinkthionein gelagert wird, ist nach Chen verschwindend gering im Vergleich zu der Menge, die im Knochen zum Wiederverbrauch gelagert werden kann.

c) Zinkthionein in der Niere

Obwohl Zinkthionein in den physikalischen und chemischen Eigenschaften dem Cadmiumthionein sehr ähnelt, sind Injektionen mit ZnTh nicht toxisch, ganz im Gegensatz zu Injektionen mit CdTh, die stark nephrotoxisch wirken. Nach Cherian (1977 b) bewirkten Zinkthionein-Injektionen keine Schäden an den Nierenzellen, aber nach 4 Stunden entstanden in den proximalen Tubuluszellen Vakuolen, die nach 24 Stunden wieder verschwunden waren. Dies ist nach vermehrter Aufnahme von Makromolekülen aber normal.

Nach Injektion von 5 mg Zinkchlorid pro kg fand Cherian, daß nur Spuren von Zink in der Niere an MT-ähnliche Proteine gebunden waren - das meiste Zink war an höhermolekulare Proteine gebunden; im Leberzytosol war dagegen 80 % des Zinks mit Metallothionein assoziiert.

Folgende Tabelle von Cherian (1977 b) zeigt die Gewebsverteilung von Zink nach Injektion von 1,2 mg Zn /kg i. v., einmal als $^{65}\text{ZnCl}_2$, einmal als $^{65}\text{ZnTh}$ nach 4 Stunden bei Ratten.

Tabelle 5: Die Verteilung radioaktiv markierten Zinks in Geweben bzw. Körperflüssigkeiten nach Injektion als Zinkchlorid oder Zinkthionein

Organ, Körperflüssigkeit	ZnCl ₂	ZnTh
Leber	23,28 $\pm$ 5,12	26,78 $\pm$ 5,36
Niere	2,81 $\pm$ 0,42	5,88 $\pm$ 1,07
Milz	0,63 $\pm$ 0,24	1,32 $\pm$ 0,30
Pankreas	2,48 $\pm$ 0,15	2,66 $\pm$ 0,50
Hoden	0,32 $\pm$ 0,08	1,26 $\pm$ 0,69
Urin	0,18 $\pm$ 0,02	1,73 $\pm$ 0,74

Angabe in Prozent der Radioaktivität der Gesamtdosis des verabreichten Zinks

Zinkthionein unterscheidet sich sowohl im Hinblick auf Metabolismus als auch auf Toxikologie von Cadmiumthionein, weil ZnTh-Injektionen nicht nur untoxisch sind, sondern das darin enthaltene Zink metabolisiert und anderen Proteinfractionen zur Verwendung geboten wird.

Nach Oh et al. (1977 a) war die Halbwertszeit von Zinkthionein in der Niere geringer als die von Cadmiumthionein, was er auf die größere Affinität von Cadmium zu Metallothionein und die daraus resultierende festere Bindung von Cd zu MT als bei Zn zu MT zurückführte. Beim Abbau verschwindet Zink parallel mit dem Abbau der Proteinhälfte.

Nach Cherian hat Zink keinerlei Einfluß auf die Synthese renalen Metallothioneins, wahrscheinlich auch deswegen, weil Zink nicht wie andere Metalle bei chronischer Darbietung in der Niere akkumuliert.

3. Wechselwirkungen von Quecksilber (Hg) mit Metallothionein

Quecksilber (Atomgewicht 200, 59) ist wie Cadmium und Zink ein II b-Gruppenelement. Es wird in der Natur hauptsächlich als Sulfid gebunden (Zinnober HgS). Die Häufigkeit in der Natur ist mit etwa 10^{-6} % die geringste der drei II b-Gruppenelemente. Wegen seines niedrigen Schmelzpunktes von $-38,89^{\circ}\text{C}$ dient Hg als flüssiges Metall zur Füllung von Thermometern und Barometern sowie als Absperrflüssigkeit beim Arbeiten mit Gasen in Laboratorien. Technisch wird es in großen Mengen als flüssige Kathode bei der elektrolytischen Alkalichloridzersetzung und bei der Goldgewinnung eingesetzt. Seine Legierungen mit anderen Metallen heißen Amalgame. Schmidt (1961)

Nach Clarkson (1977) wird der menschliche Organismus in erster Linie mit Methylquecksilberverbindungen aus Fischprodukten (vornehmlich in Japan) oder aus gebeiztem Saatgetreide, das mit quecksilberhaltigen Fungiziden behandelt und beispielsweise als Brotgetreide verwendet wurde, sowie mit metallischem Quecksilberdampf belastet. Sowohl Methyl-Hg als auch Hg^0 wirken auf das ZNS. Clarkson (1977), Goyer, Cherian (1977)

Methylquecksilberverbindungen bewirken Paraesthesien, Schädigungen von sensorischen Funktionen, Ataxien und Dysarthrien, während metallisches Quecksilber Appetitlosigkeit, psychische Störungen, Tremor und Erethismus verursacht. Die Unterschiede in der Toxizität führt Clarkson darauf zurück, daß Quecksilberdampf im Körper in Sekunden zu Hg^{++} umgewandelt wird, während diese Umwandlung bei Methyl-Quecksilber sehr langsam vor sich geht. Weniger als 1 % des Methyl-Quecksilbers werden pro Tag durch Spaltung der C-Hg-Bindung in Hg^{++} umgewandelt. Methyl-Hg kann die Placenta passieren und gelangt auch in die Muttermilch.

Jugo (1977) hat herausgefunden, daß beim wachsenden Organismus anorganisches Quecksilber vorzugsweise im Gehirn kumuliert und so zu ernsthaften Schäden führen kann.

Nach Clarkson häuft sich Quecksilber vorzugsweise in der Nierenrinde an, wo bis zu 90 % des gesamten Körper-Quecksilbers lokalisiert sein können. Nach Clarkson (1977), Goyer und Cherian (1977) haben Methyl-Quecksilber-Verbindungen eine relativ lange biologische Halbwertszeit von 70 - 80 Tagen, beim Hg-Dampf liegt sie allerdings niedriger.

Bei Quecksilberdampf-Vergiftung bewirkt Alkoholgenuß eine bis zu 10-fach verstärkte Ausatmung des metallischen Quecksilbers aus den Lungen. Blutspiegel und Haaruntersuchungen sind nach Clarkson (1977) die besten Indikatoren für die Körperbelastung mit Hg; Urin eignet sich hierfür nicht.

Die Autoren stimmen überein, daß Quecksilber an Metallothionein vornehmlich in der Niere gebunden wird und daß es die Neusynthese von Metallothionein in der Niere induziert. Von allen Metallen, die sich mit Metallothionein verbinden, hat Quecksilber die größte Affinität zu MT - es verdrängt jedes andere MT-gebundene Metall. Bouquegneau et al. (1975) Bouquegneau konnte Quecksilberthionein bei Aalen, die einer nicht letalen Dosis Quecksilberchlorid ausgesetzt waren, finden und auch die Metallothionein-Synthese nachweisen. Nach einer Vorbehandlung mit HgCl_2 waren die Aale gegen eine nachfolgende tödliche Dosis geschützt.

Vaasjoki und Miettinen (1977) konnten Metallothionein bei Forellen nachweisen, sind aber der Meinung, daß Metallothionein bei Quecksilbervergiftungen keine so schützende Funktion hat wie bei Cadmiumvergiftungen. Hg-bindendes Metallothionein beim Menschen wurde von Pulido et al. (1966) bei Patienten nachgewiesen, die quecksilberhaltige Diuretika verabreicht bekommen hatten. Pulido isolierte Quecksilberthionein aus der Leber.

Nordberg et al. (1974) fanden in der Kaninchenniere ein MT-ähnliches Protein; es hatte einen anderen isoelektrischen Punkt als das von Cadmium induzierte MT, und Nordberg war sich nicht sicher, ob dieses durch Hg induzierte Protein mit Metallothionein identisch war. Bei der Absorption fehlte die für Cadmiumthionein typische Schulter bei 250 nm - man führte dies auf die fehlende SH-Cd-Bindung zurück, die wohl für diese Schulter verantwortlich ist.

Weiterhin stellte Nordberg fest, daß Quecksilber Cadmium von Cadmiumthionein verdrängt. Da Cd von CdTh in sauerem Milieu abgelöst wird, Hg von HgTh jedoch nicht, meint Nordberg, daß Hg stärker an MT gebunden wird.

Winge et al. (1975 a) zeigten in ihren Untersuchungen mit Ratten, daß die Proteine, die durch Quecksilber induziert werden, identisch sind mit dem Metallothionein, welches durch Cadmium induziert wird. Auch bei der Induktion durch Quecksilber werden in der Rattenleber zwei Formen von Metallothionein (mehr anionisch als bei der Cd-Induktion) gefunden, die genauso wie die durch Cadmium oder Silber induzierten Metallothioneine zusätzlich Zink enthalten. Der Grund, weshalb zwei Formen MT induziert werden, ist nach Winge et al. (1975) unbekannt; ihre Aminosäurezusammensetzung schließt jedenfalls aus, daß sie sich voneinander ableiten lassen.

Bei der Analyse von Lebern und Nieren gesunder kalifornischer Seelöwen fanden Lee et al. (1977) folgendes subzelluläres Verteilungsmuster von Quecksilber:

Tabelle 6: Das subzelluläre Verteilungsmuster von Quecksilber in Leber und Nieren kalifornischer Seelöwen

Zellfraktion	Leber	Niere
Kernfraktion	66,0 %	40,9 %
Mitochondrienfraktion	28,2 %	22,4 %
Mikrosomenfraktion	3,5 %	5,9 %
Lösliche Fraktion	2,3 %	20,8 %

Angabe in Prozent der Gesamtmenge des Quecksilbers

Das Metallothionein in der Niere der Seelöwen enthielt 20 - 30 % des Quecksilbers, das in der Leber jedoch nur 2 - 3 %. Lee konnte übereinstimmend mit Winge et al. (1975 a) zwei Formen Metallothionein in der Seelöwenniere finden, wobei die eine Form 7,2 g Atome Hg und Cd pro Mol band, die andere 14 g Atome Hg und Cd. Lee glaubt, daß die Form Metallothionein deshalb weniger Hg und Cd bindet, weil sie auch Zink enthält.

Da aber auch viel Quecksilber im Zellzytosol an hochmolekulare Proteine gebunden wird, hält Lee es für unwahrscheinlich, daß Metallothionein der einzige Zellbestandteil ist, der die Tiere gegen hohe Quecksilber-Konzentrationen schützt.

Piotrowski et al. (1974) konnten nach subkutaner Verabreichung von Phenylquecksilberacetat, Chmielnicka und Brzeznicka (1978) auch noch bei Verabreichung von Äthylquecksilberchlorid und von Methylquecksilber in den Nieren von Ratten - nicht jedoch in den Lebern - vermehrt Hg finden, das an MT gebunden war.

Nachdem Piotrowski et al. (1974) zwei Wochen lang jeden 2. Tag 0,5 mg HgCl_2 /kg s.c. verabreicht hatten, fanden sie 100 - 130 $\mu\text{g Hg/g}$ Nierengewebe. Dieser Quecksilber-Spiegel blieb bei weiterer Verabreichung stabil, hierbei war die Gewebekonzentration von Metallothionein 2,4 - 2,9 mg/g. In der Leber blieb die MT-Konzentration bei 0,1 - 0,4 $\mu\text{g/g}$ Gewebe, die Hg-Konzentration erreichte 0,5 $\mu\text{g/g}$ Lebergewebe. Piotrowski folgerte, daß Hg nicht in der Leber sondern in der Niere kumulierte, und daß nach wiederholter Verabreichung von Quecksilber in den Nieren vermehrt Metallothionein synthetisiert wird, an das Quecksilber gebunden wird.

Auch Cherian und Clarkson (1976) fanden in ihren Versuchen, in denen sie Ratten 2 Stunden am Tag metallischem Quecksilberdampf aussetzten ($4,1 \text{ mg Hg/m}^3$), daß nach drei Tagen in der Niere ein Protein synthetisiert wurde, welches identische Eigenschaften mit MT bezüglich Molekulargewicht, Hitzestabilität, Lokalisation in der Zelle und isoelektrischem Punkt hatte. Elementarer Hg-Dampf wird bei der Aufnahme in vivo sofort zu zweiwertigen Hg^{++} -Ionen oxydiert und in der Niere u.a. an MT gebunden, wobei wiederholte Applikation die Biosynthese von MT in der Niere anregt. Nach Cherian könnte die Existenz von Quecksilberthionein das Verbleiben von Quecksilber im Urin lange nach Beendigung einer Hg-Belastung ebenso wie die hohe Toleranz des menschlichen Organismus gegenüber Quecksilber erklären.

Nach Vaasjoki und Miettinen (1977) schützte Vorbehandlung mit Zink Regenbogenforellen nicht gegenüber Quecksilbergaben.

Webb (1975) fand bei Versuchen mit Ratten, daß Cadmium-Vorbehandlung gegen nephrotoxische Wirkungen des Hg^{++} schützt, weil sich im Vergleich zu Kontrolltieren viel mehr Quecksilberthionein bildet. Dieses HgTh enthält auch Cadmium, weshalb Webb Cd als Katalysator betrachtet: Hg verdrängt Cd vom CdTh, es bildet sich HgTh; das freie Cd stimuliert dann wieder die MT-Synthese.

Bemerkenswert ist, daß trotz hohen Metallothioneingehalts der Leber nach Cadmium-Vorbehandlung und hoher Affinität von Quecksilber zu Metallothionein (höher als von Cadmium zu Metallothionein) das Hg^{++} trotzdem in der Niere als HgTh kumuliert.

Es wurde auch noch beobachtet, daß Metallothionein anorganisches Quecksilber im Gehirn bindet. Piotrowski und Zelazowski (1977)

Dies weist auch auf eine Funktion des MT bei der Schwermetallentgiftung hin, da ja das ZNS das Zielorgan der toxischen Wirkungen des Quecksilbers ist.

Zusammenfassend wäre in Übereinstimmung mit allen Autoren zu sagen, daß Quecksilber die höchste Affinität aller Metalle zu Metallothionein hat. Es induziert neben Cadmium, Zink und Silber sicher die Synthese von Metallothionein und kumuliert fast ausschließlich in der Niere.

4. Wechselwirkungen von Kupfer (Cu) mit Metallothionein

Kupfer (Atomgewicht 63,54) steht neben Silber und Gold in der 1. Nebengruppe und kommt in der Natur als Kupferkies CuFeS_2 , Kupferglanz Cu_2S , Rotkupfererz Cu_2O und Malachit CuCO_3 vor.

Kupfer ist zäh und verhältnismäßig weich. Nach Silber ist es der beste metallische Leiter für Strom und Wärme und wird deshalb in der Elektrotechnik und für Heizrohre, Kühlschlangen und Destillierapparaturen benützt. Seine Legierungen sind Messing (Cu-Zn) und Bronze (Cu-Sn).

Für den Organismus ist Kupfer ein essentielles Spurenelement mit wichtigen Funktionen im Stoffwechsel; der Gesamtbestand beim Menschen beträgt 0,1 - 0,15 g, der tägliche Bedarf liegt bei 1 - 2 mg Kupfer.

Die Serumkupferkonzentration beträgt 90 $\mu\text{g}/100\text{ ml}$, wovon 96 % an das mit der α_2 -Globulinfraction des Serums wandernde Caeruloplasmin fest gebunden sind, während 4 % locker an Serumalbumin assoziiert sind. Caeruloplasmin ist ein Protein mit einem Molekulargewicht von 151 000 und bindet 8 Cu^{++} pro Mol (entspricht 0,34 % Kupfergehalt).

Kupfer ist Bestandteil des Cytochrom a (16 Kupferatome pro Mol), der Katalase, Tyrosinase und anderer Enzyme. Kupfer ist an organspezifische Proteine gebunden, von denen das Hepatocuprein der Leber, das Erythrocuprein der Erythrozyten (MG 33 000, 2 $\text{Cu}^{++}/\text{Mol}$) und das Cerebrocuprein des ZNS bekannt sind. Buddecke (1974)

Bei Kupfermangel entwickelt sich eine hypochrome mikrozytäre Anämie. Bei der genetisch bedingten Wilsonschen Erkrankung wird vermehrt Kupfer resorbiert, jedoch nicht an Caeruloplasmin gebunden - es kommt zur Akkumulation des Kupfers, vor allem in der Leber.

Beim ebenfalls genetisch bedingten Menkes Syndrom findet man zu wenig Caeruloplasmin und Cuprein, und es herrscht in verschiedenen Organen Kupfermangel.

Sharoyan et al. (1977) berichten von einem neuen kupferhaltigen Protein aus dem Gehirn, das sie Neurocuprein nennen. Es ist sowohl von dem Cerebrocuprein, das wie Erythrocuprein und Hepatocuprein Superoxyd-Dismutase-Aktivität aufweist, als auch von dem von Fushimi et al. (1971) im Gehirn gefundenen Albocuprein verschieden. Albocuprein hat ein niedriges Molekulargewicht, ist reich an Schwefelwasserstoffgruppen und hat Eigenschaften, die für Metallothioneine charakteristisch sind. Sabbioni und Marafante (1975) berichten, daß ^{64}Cu an das Metallothionein Cd-vorbehandelter Ratten gebunden wird; Suzuki et al. (1977) bestätigen dies und meinen, daß wohl auf Grund der höheren Affinität des Kupfers zu Metallothionein als Cadmium und Zink, die er in vitro bestätigt fand, das Kupfer-Ion Cd aus CdTh und Zn aus ZnTh verdrängt und Kupferthionein (CuTh) bildet.

Suzuki et al. verabreichten Ratten Cadmiumchlorid intraperitoneal und Cadmium als Cadmiumsalz oral einfach und mehrfach. Während nach Kupferverabreichung in der Niere Cu in der MT-Fraktion eines der bedeutendsten Metalle war, fand sich in der Leber derselben Tiere nur wenig Cu an der MT-Fraktion (2 - 3 % des Cadmiums).

Suzuki vermutet, daß - durch Verdrängung des Cd von CdTh durch Cu - Kupfer so die Toxizität des freien Cadmium-Ions hervorrufen könnte. Übereinstimmend mit diesen Ergebnissen fanden Irons und Smith (1976), daß die gleichzeitige Verabreichung von Cadmium und Kupfer mit einer Toxizitätsänderung verbunden ist; in seinen Experimenten mit Ratten war die Mortalität bei Verabreichung von Cadmium und Kupfer erheblich größer, als wenn ausschließlich Cadmium verabreicht wurde.

Allerdings fand Irons, daß das Kupfer hauptsächlich an eine Proteinfraction mit einem Molekulargewicht über 60 000 gebunden war, was er für möglicherweise aggregiertes Metallothionein hält, da in vitro diese Aggregation in Anwesenheit von Kupfer bestätigt wurde. Das könnte auch der Grund sein, weshalb Cadmium bei gleichzeitiger Verabreichung von Cd + Cu nicht an Metallothionein sondern an eine hochmolekulare Proteinfraction gebunden wird.

Nach Klaasen (1978) ändert sich durch Cadmium-Behandlung auch die Ausscheidung von Kupfer über die Galle; so wurde 2 Stunden nach der Kupfer-Injektion bei Cd-vorbehandelten Tieren 59 % weniger Kupfer in die Galle ausgeschieden; der Kupferspiegel im Blut blieb unverändert. Ryden und Deutsch (1978) konnten in fetalen menschlichen Lebern relativ hohe Kupferspiegel feststellen, nämlich 198 ng Cu /mg Trockengewicht im Vergleich zu 26 ng Cu /mg Trockengewicht bei Erwachsenen. Kupfer war dabei an ein Protein mit einem Molekulargewicht von 6 000 gebunden, dessen Charakteristika dem Zinkthionein aus Lebern erwachsener Menschen ähneln; der Hauptunterschied war ein niedrigerer Cysteingehalt.

Ryden hält das Protein für ein Metallothionein.

Evans (1973) isolierte bei Patienten mit Wilsonscher Krankheit ein Kupferthionein, das eine 4 mal so große Kupferbindungskonstante hat ($1,25 \times 10^6 \text{ M}^{-1}$) wie das Protein von Kontrollpatienten ($3,0 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$), obwohl gleich viele Metallbindungsstellen - nämlich 7,9 g Atom /Mol - vorhanden waren. Er vermutet deshalb, daß die Änderung der Kupferhomöostase bei der Wilsonschen Krankheit von der Synthese eines abnormalen metallbindenden Proteins mit erhöhter Affinität für Kupfer herrühren könnte. Die Folgen wären dann weniger Cu-Ausscheidung über die Galle und weniger Cu-Bindung an Caeruloplasmin, beides Symptome, die bei der Wilsonschen Krankheit zu beobachten sind.

Chan et al. (1978) glauben, daß beim Menkes Syndrom die Hauptursache bei einem Metallothionein mit verminderter Kupferaffinität liegt. Beim Menkes Syndrom, einer progressiven ZNS-Störung mit Symptomen wie schlechte Nahrungsaufnahme, Lethargie, Neigung zu Anfällen und psychomotorische Verzögerungen, findet man zu wenig Caeruloplasmin und Cuprein; in verschiedenen Organen wie Leber und Gehirn herrscht Kupfermangel. Garnica et al. (1974)

Chan vermutet, daß Metallothionein in der Zelle notwendig ist, um Cu, als CuTh gebunden, zur Membran zu bringen, wo Kupfer über einen Membrancarrier an einen extrazellulären Träger wie Albumin kommen kann.

Ist die Affinität des Metallothioneins für Kupfer jedoch zu niedrig, verbindet sich Kupfer mit anderen Proteinen und verbleibt in der Zelle - es kommt zu Kupfermangel.

Chan's Hypothese ist also, daß Metallothionein als intrazellulärer Kupferträger arbeitet, und daß bei Menschen, die am Menkes Syndrom erkrankt sind, die Änderung der MT-Cu-Affinität die Hauptabnormität ist.

Ein weiterer Hinweis auf die Existenz von Kupferthionein kommt von Bremner und Young (1977). Sie fanden in der Nierenrinde von Schafen mit Kupfervergiftung bis zu 240 µg Cu /g Frischgewicht; davon waren 64 % im Zytosol, wovon 75 % an ein MT-ähnliches Protein gebunden waren.

Keine bedeutenden Mengen des Proteins konnten im Plasma oder an den Erythrozyten bei kupfervergifteten Schafen gefunden werden, obgleich durch Leberschäden andere Leberproteine im Plasma vorhanden waren. In Übereinstimmung mit den Ergebnissen von Delves (1976) war das meiste Kupfer an der α_2 -Fraktion im Serum gebunden; an irgendeiner anderen Proteinfraction konnte kein Kupfer nachgewiesen werden. Die Clearance für von der Leber ins Blut geratenes Kupferthionein muß deshalb sehr schnell erfolgen.

Nach Bremner und Young (1977) wird Kupferthionein, i. v. verabreicht, wie Cadmiumthionein verstoffwechselt und führt, in der Niere angehäuft, zur Nekrose der proximalen gewundenen Tubuluszellen. Ihrer Meinung nach stellen die Metallothioneine die wichtigsten kupferbindenden Proteine bei chronisch kupfervergifteten Schafen. Die schnelle Synthese des Proteins in der Niere macht es unwahrscheinlich, daß das Protein in der Leber synthetisiert und zur Niere transportiert wird. Außerdem unterscheiden sich diese renalen Kupferproteine in ihrer Aminosäurezusammensetzung und im Verhalten bei der Chromographie von anderen Kupferproteinen aus Lebern von Ratten, denen Cu injiziert wurde und von Kupferchelatin.

Nach Day et al. (1978) und Winge et al. (1975 b) wird auf Verabreichung von Kupfersalzen in der Rattenleber nicht Kupferthionein sondern Kupferchelatin gebildet, ein Protein mit MG = 8 000, 14,6 % Cystein und wenig aromatischen Aminosäuren. Es enthält bis 4,2 % diamagnetisches Kupfer - entsprechend 6 Atomen pro Molekül Chelatin.

Der überzeugendste Unterschied zwischen Thionein und Chelatin zeigte sich bei der Anionenaustauschchromatographie (MT wurde in zwei Komponenten fraktioniert, während Chelatin zäh adsorbiert blieb) und in der Aminosäurezusammensetzung (bei Cu-Chelatin 14,6 % Cystein und aromatische Aminosäuren, bei CdTh dagegen 25 - 28 % Cystein und gänzlich Fehlen aromatischer Aminosäuren).

In einem Experiment bekamen Ratten 0,5 mg Cadmium pro kg verabreicht, danach 1,5 mg Actinomycin D pro kg und schließlich 2,5 mg Kupfer als Kupferchlorid pro kg. Bei nachfolgender Chromatographie erschienen nur die beiden Thioneinfraktionen, wo auch Kupfer substituiert war, d.h., Kupferthionein in vivo, durch Substitution von Kupfer für Cadmium entstanden, hat identische Eigenschaften mit den anderen Metallothioneinen und ändert die Eigenschaften des Proteins nicht. Die Unterschiede im Chromatographieverhalten beruhen auf der Proteinhälfte und nicht auf Kupfer-Wirkungen.

Weiter stellten Winge et al. (1975 b) fest, daß das Kupfer vom CuCh zwar durch Quecksilber und Silber, nicht aber durch Cadmium, Eisen, Zink, Kobalt, Blei oder Mangan verdrängt wurde; er schließt daraus, daß die 6 Metallbindungsstellen des Chelatinmoleküls spezifisch sind, weil Cd nicht mit Cu - wie Hg oder Ag - konkurriert.

Nach Premakumar et al. (1975 b) sind RNS-Synthese und Proteinsynthese notwendig, um Chelatin zu bilden. Das Fehlen von Kupferchelatin bei Kontrolltieren, das Fehlen des Apoproteins, die Cu-induzierte Zunahme radioaktiv markierten Lysins bei der Chelatinfraktion, die vermehrte Beteiligung radioaktiv markierter Orotsäure bei der RNS-Synthese und die Blockierung der Kupferwirkungen durch Actinomycin D lassen ihrer Meinung nach den Schluß zu, daß die Induktion von Kupferchelatin unter transskriptionaler Kontrolle ist.

Premakumar et al. (1975 a) fanden Kupferchelatin nach Kupfer-Gabe auch in Kaninchen- und Hühnerlebern sowie in Hefe und Bohnen. Außerdem konnte in menschlichen Lebern post mortem neben Metallothionein noch Kupferchelatin nachgewiesen werden.

Eine Funktion des Kupferchelatins bei der Lagerung und Homöostase von Kupfer im Organismus sowie Schutzfunktion vor zytotoxischen Wirkungen freier Kupfer-Ionen wird von Winge und Premakumar angenommen.

Bemerkenswert ist noch ein Verteilungsmuster von Kupfer in verschiedenen Geweben der Ratte nach wiederholten i. p. Injektionen von Kupferchlorid.

Tabelle 7: Verteilung von Kupfer in verschiedenen Geweben nach wiederholten Kupferchlorid-Injektionen

Gewebe	Kontrolltier	Kupfer-Behandlung
Leber	4,8	63,7
Niere	8,9	20,5
Gehirn	2,2	2,3
Herz	6,2	6,7
Milz	5,7	4,3
Lunge	4,1	4,2

Angaben in μg Kupfer pro g Gewebe

Einigkeit herrscht also bei den Autoren darüber, daß Cd-induziertes Metallothionein auch Kupfer bindet, und daß durch Cu-Injektionen ein kupferbindendes Protein synthetisiert wird.

Über die Funktionen besteht noch Unklarheit. Während Winge et al. (1975 a) Funktionen bei der Lagerung vermutet und beim Schutz gegen freie Kupfer-Ionen, sehen Prinz und Weser (1975) Schlüsselfunktionen der Kupfer-Schwefelproteine beim Elektronentransport in den Mitochondrien. Chan et al. (1978) mutmaßen Aufgaben von Metallothionein beim intrazellulären Kupfertransport.

5. Wechselwirkungen von anderen Metallen mit Metallothionein

Über die Induktion der Metallothionein-Synthese durch andere Metalle und die Bindung anderer Metalle an MT sind die Autoren z.T. verschiedener Meinung.

Mit großer Wahrscheinlichkeit wird die Synthese dieses Proteins neben Zink, Cadmium, Quecksilber und Kupfer auch durch Silber, Gold - Winge et al. (1978) - und sogar Wismut, Kobalt und Eisen - Piotrowski und Szymanska (1976) - induziert.

Nach Piotrowski veränderten Beryllium Be, Magnesium Mg, Barium Ba, Strontium Sr, Zinn Sn, Arsen As, Selen Se, Chrom Cr und Nickel Ni den Metallothioneinspiegel weder in der Leber noch in der Niere.

Vanadium V, Mangan Mn und Blei Pb stimulierten die Neusynthese auch nicht, Blei wurde jedoch an Metallothionein in der Niere teilweise gebunden.

Sabbioni und Marafante (1975) kamen zu dem Schluß, daß hauptsächlich Cadmium, Zink und Kupfer, deutlich Quecksilber und Silber sowie wenig Gold, Eisen, Mangan und Kobalt an Metallothionein gebunden waren. Caesium Cs, Antimon Sb und Scandium Sc waren so gering vorhanden, daß es sich auch um Artefakte handeln könnte.

Pulido et al. (1966) fanden bei der Untersuchung menschlicher Nieren, daß Eisen, Magnesium, Strontium, Chrom, Aluminium, Blei und Mangan einen unbedeutenden Teil des gesamten Metallgehalts der Metallothioneine ausmachten.

Nach Sabbioni und Marafante (1975) werden Nickel Ni, Iridium Ir, Vanadium V, Tellur Te, Arsen As, Selen Se, Mangan Mn, Kobalt Co und Wismut Bi nicht an MT gebunden, während andere Autoren bei Wismut, Kobalt und Mangan eine Bindung an Metallothionein nachweisen konnten. Piotrowski und Szymanska (1976)

Webb (1975) behauptet, daß auch Zinn an vorsynthetisiertes Protein gebunden wird.

Am wahrscheinlichsten und von den meisten Autoren bestätigt ist der Einbau von Silber in MT und die induzierende Wirkung von Ag auf die Neusynthese von MT. Nach Cherian und Goyer (1978 b) induzieren Silbersalze Metallothionein in Leber und Niere.

Klaasen (1978) fand für Silber in vitro eine höhere Affinität zu Metallothionein als es Cadmium hat; in vitro verhielten sich die Metalle folgendermaßen:

Hg Ag Cd Zn

Nach Winge et al. (1975 a) hatten sämtliche von Quecksilber, Silber und Cadmium induzierten Metallothioneine zusätzlich Zink gebunden und änderten den Zinkstoffwechsel, wenn sie i.v. verabreicht wurden. Mehr Zink kam in die Leber, weil Zn wohl zum Aufbau von Thionein benötigt wurde, entweder durch vermehrte Zinkabsorption oder durch einen Zinkretentionsmechanismus. Nach Winge et al. (1978) änderte auch Gold, als AuCl_3 verabreicht, den Zinkmetabolismus, nicht jedoch Zinn als SnCl_2 , Blei als $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$, Palladium als PdCl_2 oder Kupfer als CuCl_2 verabreicht.

Nach Piotrowski und Szymanska (1976) erhöhen Kobaltgaben, hier als $\text{Co}(\text{NO}_3)_2$ in einer Menge von 12,5 mg/kg, die Metallothioneinsynthese in der Leber von Ratten, ähnlich wie Cadmium, Zink und Kupfer.

Wismut dagegen, als BiCl_3 in einer Menge von 0,5 mg/kg injiziert, erhöhte lediglich den MT-Spiegel in den Nieren der Tiere, die nach mehrfacher Injektion 30 % des gesamten Wismuts im Körper enthielten. Wismut ähnelt somit in vielen Beziehungen dem Quecksilber, weil auch die Intensität der Wirkung ähnlich stark ist. Szymanska et al. (1977)

Tabelle 8: Die stimulierenden Eigenschaften verschiedener Metalle mit Berücksichtigung des Spiegels MT-ähnlicher Proteine in der Leber und der Niere

Metall	Leber	Niere
Cadmium	+++	+++
Zink, Kupfer	++	+
Kobalt	+	-
Quecksilber		+++
Wismut		++

aus Piotrowski und Szymanska (1976)

Cherian und Goyer (1978 b) weiten eine ähnliche Übersicht auf andere Metalle und andere Organe aus, ohne auf die Intensität der Wirkung weiter einzugehen.

Tabelle 9: Die Synthese MT-ähnlicher Proteine in verschiedenen Organen, induziert durch unterschiedliche Metallsalze

Metall	Leber	Niere	Milz	Knochen
Cadmium	+	+	+	?
Silber	+	+	?	-
Kupfer	+	+	-	-
Zink	+	-	-	-
Gold	?	+	-	-
Wismut	?	+	-	-
Quecksilber	-	+	-	-
Blei	-	-	-	-

+ = bewirkt Synthese (parenteral und oral)
? = kein eindeutiger experimenteller Beweis
- = keine Synthese

Einen Hinweis auf die Wechselwirkungen von verschiedenen Metallen mit Metallothionein geben noch die Untersuchungen von Klaasen (1978). Er konnte feststellen, daß nach Cadmium-Vorbehandlung im Vergleich zu Kontrolltieren die Ausscheidung über die Galle von Cadmium um 99 %, von Silber um 64 %, von Kupfer um 59 %, von Quecksilber um 55 %, von Zink um 59 % und von Blei um 20 % zurückging. Klaasen glaubt, daß ein Metall, sobald es an Metallothionein gebunden ist, nicht mehr so leicht über die Galle ausgeschieden werden kann. Alles in allem herrscht jedoch noch keine hundertprozentige Klarheit darüber, welche Metalle MT-ähnliche Proteine in welchen Geweben induzieren und was alles an Metallothionein gebunden wird.

Erwähnenswert sind noch die Wirkungen des Selens auf die Metallothioneine. Zwar stimuliert Selen die Biosynthese der Metallothioneine nicht und wird auch nicht an MT selbst gebunden, aber es blockiert die stimulierende Wirkung des Quecksilbers auf die Metallothionein-Synthese in der Niere.

Nach Stadtman (1977) ist Selen ein essentielles Spurenelement, von dem Funktionen bei der Fruchtbarkeit sowie beim Widerstand gegen gewisse Infektionen und Karzinome vermutet werden. Die toxische Grenze bei der Nahrungsaufnahme liegt für den Erwachsenen bei 1 mg Selen pro Tag.

Komsta-Szumaska et al. (1976) verabreichten Ratten 14 Tage lang jeden zweiten Tag 0,5 mg Quecksilber pro kg, einem Teil davon zusätzlich 0,5 mg Selen pro kg per os. Bei Ratten, denen nur Hg verabreicht wurde, waren 42 % des Quecksilbers in der Niere und 7 % in der Leber an Metallothionein gebunden abgelagert. Wurde Hg + Se verabreicht, waren 33 % des Quecksilbers in der Leber und 8 % in der Niere nicht an Metallothionein, sondern an hochmolekulare Proteine gebunden abgelagert; Selen behindert also die Bindung von Quecksilber an MT. Komsta-Szumaska vermutet, daß die Ursache hierfür die Bildung eines hochmolekularen Se-Proteins ist, das eine sehr hohe Hg-Bindungsaffinität hat.

Nach Chmielnicka und Brzezniczka (1978) bewirkt Natriumselenit Na_2SeO_3 auch ohne Quecksilber-Gabe ein Absinken der physiologischen MT-Werte der Niere von 0,25 auf 0,14 mg /g; bei gleichzeitiger Hg-Verabreichung verhinderte es die induzierende Wirkung in der Niere.

Piotrowski et al. (1977) fanden weiterhin, daß Selen auch eine Rolle bei der Cadmiumvergiftung spielt, da es toxische Effekte des Cadmiums auf Hoden ebenso wie Nekrosen nicht ovulierender Ovarien verhinderte. Selen beeinflusste dabei aber den stimulierenden Effekt von Cadmium auf Leber und Niere nicht. Daraus schließt Piotrowski, daß Selen eher die Cadmium-Bindung im Hoden als in der Leber beeinflusst.

In Übereinstimmung damit fanden Chen et al. (1977), daß Selen-Vorbehandlung zur Aufhebung der Cadmium-Metallothionein-Bindung zugunsten hochmolekularer Proteine im Hoden, nicht jedoch in der Leber, führte.

Zur Veranschaulichung der Selenwirkung folgt noch eine Aufstellung von Piotrowski et al. (1977).

Tabelle 10: Der Metallothionein-Spiegel in Niere und Leber von Ratten

Metall	Niere	Leber
Kontrolle	0,20	0,11
Cadmium	0,39	0,77
Cadmium + Selen	0,42	0,89
Quecksilber	0,55	0,09
Quecksilber + Selen	0,17	0,07

Durchschnittswerte in mg pro g

C. SCHLUSSBETRACHTUNG ÜBER EIGENSCHAFTEN UND MÖGLICHE FUNKTIONEN DER METALLOTHIONEINE

Metallothioneine sind niedermolekulare Proteine, die auf den Reiz verschiedener Metalle hin vornehmlich in Leber und Niere synthetisiert werden. Es läßt sich noch keine klare Aussage über die Funktion der Metallothioneine machen, ihre Eigenschaften sind jedoch weitgehend erforscht. Nachfolgende Übersicht von Goyer und Cherian (1978 b) gibt die wichtigsten wieder. Für weitere Details in Aminosäure-zusammensetzung und Synthese möchte ich auf Hofmann (1979) verweisen.

Eigenschaften der Metallothioneine

- 1) Induzierte Synthese durch gewisse Metalle und Streßzustände
- 2) Niederes Molekulargewicht (6 000 - 11 000)
- 3) Hoher Cysteingehalt (30 %), Affinität von Thionein für Metalle
- 4) Fehlen von Disulfidbrücken und aromatischen Aminosäuren
- 5) Absorptionsmaximum bei 250 nm für Cadmiumthionein
Absorptionsminimum bei 280 nm
- 6) Hitzestabilität
- 7) Subzelluläre Lokalisation im Zytoplasma
- 8) Auftreten als intrazelluläres Protein
- 9) Abwesenheit in biologischen Flüssigkeiten

Eine weitere Übersicht über mögliche biologische Funktionen stammt ebenfalls von Goyer und Cherian (1978 b):

Biologische Funktionen von Metallothionein

- 1) Lagerung von Metallen
- 2) Entgiftung von Metallen, Schutz vor Toxizität
- 3) Transport von Metallen
- 4) Immunreaktion
- 5) Metabolismus essentieller Metalle

Cherian und Goyer vergleichen die induzierte Metallothionein-Synthese durch Metallspuren und folgendem Schutz gegen höhere Dosen mit der Synthese von Immunglobulinen durch einen Antigenreiz, aber man weiß noch zu wenig über metallothionein-Synthese auf der Basis von T- oder B-Zellen.

Der Transport der Metalle geht nach Cherian und Goyer von der Leber zur Niere nicht über Metallothionein; sie vermuten vielmehr, daß die Metalle an Plasmaproteine wie Albumin gebunden werden oder durch Chelatbildung kleinerer schwefelhaltiger Aminosäuren im Blut transportiert werden.

Winge et al. (1978) glauben, daß Metallothionein physiologisch direkt auf die stimulierende Wirkung des Zinks hin entsteht und seine Hauptaufgabe im Zinkstoffwechsel hat, wo Metallothionein die freie Gewebskonzentration des Zinks regelt und somit zytotoxische Wirkungen des freien Ions verhindert. Außerdem dient Metallothionein zur Lagerung und zum intrazellulären Transport von Zink.

Die Schwermetallentgiftung halten Winge et al. (1978) für eine zufällige Folge von physiochemischen Ähnlichkeiten dieser Metallionen mit Zink.

Henkin et al. (1975) isolierten Zinkthionein sogar aus menschlichem Parotisspeichel und schließen auf Funktionen bei Appetit und Geschmack.

Über die Funktion der Metallothioneine herrschen noch die unterschiedlichsten Ansichten, und es bedarf wohl noch eingehender Untersuchungen, um die biologische Aufgabe dieser Metalloproteine eindeutig zu erklären. Als sicher darf angenommen werden, daß Metallothioneine bei der Resorption, Verteilung, Lagerung und Ausscheidung gewisser Metalle eine wichtige Rolle spielen.

D. LITERATURVERZEICHNIS

Altman, H.J.

Toxikologische Bedeutung der Metallothioneine

Bundesgesundheitsblatt 21 (1978) 317 - 324

Bouqueneau, J.M., Gerday, Ch., Distèche, A.

Fish mercury-binding thionein related to adaption mechanism

FEBS Lett. 55 (1975) 173 - 177

Bremner, J.

Heavy metal toxicities

Quart. Rev. Biophys. 7 (1974) 75 - 124

Bremner, J., Young, B.W.

Copper thionein in the kidneys of copper-poisoned sheep

Chem. Biol. Interact. 19 (1977) 13 - 23

Bremner, J., Davies, N.T.

The induction of metallothionein in rat liver by zinc injection and restriction of food intake

Biochem. J. 149 (1975) 733 - 738

Buddecke, E.

Grundriß der Biochemie

Walter de Gruyter, Berlin New York (1974)

Carson, S., Vogin, E.E., Huber, W., Schulte, T.L.

Safety test of orgotein, an antiinflammatory protein

Toxicol. Appl. Pharmacol. 26 (1973) 184 - 202

Chan, W.Y., Garnica, A.D., Lennert, O.M.

Metal-binding studies of metallothioneins in Menkes Kinky Hair Disease

Clinica. Chimica. Acta. 88 (1978) 221 - 228

Chen, R.W., Vasey, E.J., Whanger, P.D.

Accumulation and depletion of Zn in rat liver and kidney metallothioneins

J.Nutr. 107 (1977) 805 - 813

Cherian, M.G.

Isolation and purification of cadmium binding proteins from rat liver

Biochem. Biophys. Res. Commun. 61 (1974) 920 - 926

Cherian, M.G.

Biliary excretion of cadmium in rats. II The role of metallothionein in the hepatobiliary transport of cadmium

J.Toxicol. Environ. Health 2 (1977 a) 955 - 961

C h e r i a n , M.G.

Studies on the synthesis and metabolism of zinc-thionein in rats

J.Nutr. 107 (1977 b) 965 - 972

C h e r i a n , M.G.

Induction of renal metallothionein synthesis by parenteral cadmium-thionein in rats

Biochem. Pharmacol. 27 (1978) 1163 - 1166

C h e r i a n , M.G., C l a r k s o n , T.W.

Biochemical changes in rat kidney on exposure to elemental mercury vapor: effect on biosynthesis of metallothioneins

Chem. Biol. Interact. 12 (1976) 109 - 120

C h e r i a n , M.G., G o y e r , R.A., D e l a q u e r r i e r e -

R i c h a r d s o n , L.

Cadmium-metallo-thionein induced nephropathy

Toxicol. Appl. Pharmacol. 38 (1976) 399 - 408

C h e r i a n , M.G., G o y e r , R.A.

Role of metallothioneins in disease

Ann. Clin. Lab. Sci. 8 (1978 a) 91 - 94

C h e r i a n , M.G., G o y e r , R.A.

Metallothioneins and their role in the metabolism and toxicity of metals

Life. Sci. 23 (1978 b) 1 - 9

C h m i e l n i c k a , J., B r z e z n i c k a , E.A.

The influence of selenium on the level of mercury and metallothionein in rat kidneys in prolonged exposure to different mercury compounds

Bull. Environ. Contam. Toxicol. 19 (1978) 183 - 190

C l a r k s o n , T.W.

Mercury poisoning

Brown S.S., ed.: Clinical chemistry and chemical toxicology of metals.

Elsevier/North-Holland, Amsterdam (1977)

D a y , F.A., C o l e s , B.J., B r a d y , F.O.

Postinductive actinomycin D effects on the concentrations of cadmium thionein, zinc thionein, copper chelatin in rat liver

Bioinorg. Chem. 8 (1978) 93 - 105

D e l v e s , H.T.

The microdetermination of copper in plasma protein fractions

Clinica. Chimica. Acta. 71 (1976) 495 - 500

E v a n s , G.W.

Wilson's disease; identification of an abnormal copper-binding protein

Science 181 (1973) 1175 - 1176

Feldman, S.L., Cousins, L.J.

Degradation of hepatic zinclothionein after parenteral zinc administration

Biochem. J. 160 (1976) 583 - 588

Friberg, L., Piscator, M.

Cadmium in the environment

CRC Press Division, Chemical Rubber Co., Cleveland Ohio (1974)

Fushimi, F., Hamison, C.R., Ravin, H.A.

Two new copper proteins from human brain. Isolation and properties

J. Biochem. 69 (1971) 1041 - 1054

Garnica, A.D., Frias, J.L., Easley, J.F., Rennert, O.M.

Menkes Kinky Hair Disease. A defect in metallothionein-metabolism.

Birth Defects 10 (1974) 149 - 155

Goyer, R.A., Cherian, M.

Tissue and cellular toxicology of metals

Brown S.S., ed: Clinical chemistry and chemical toxicology of metals.

Elsevier/North-Holland, Amsterdam (1977)

Henkin, R.T., Lippoldt, R.E., Bilstad, J.

A zinc protein isolated from human parotid saliva

Proc. Natl. Acad. Sci. USA 72 (1975) 488 - 492

Hofmann, A.

Dissertation Erlangen in Vorbereitung (1979)

Irons, R.D., Smith, I.C.

Prevention by copper of cadmium sequestration by metallothionein in liver

Chem. Biol. Interact. 15 (1976) 289 - 294

Jugo, S.

Metabolism of toxic heavy metals in growing organisms. A review

Environment. Res. 13 (1977) 36 - 46

Kimura, M., Otaki, N., Yoshiki, S., Suzuki, M.

Horiuchi, N., Suda, T.

The isolation of metallothionein and its protective role in cadmium poisoning

Arch. Biochem. Biophys. 165 (1974) 340 - 348

Klaasen, C.D.

Effect of metallothionein on hepatic disposition of metals

Am. J. Physiol. 234 (1978) 47 - 53

Komsta-Szumaska, E., Chmielnicka, J.,

Piotrowski, J.K.

The influence of selenium on binding of inorganic mercury by

metallothionein in the kidney and liver of the rat

Biochem. Pharmacol. 25 (1976) 2539 - 2540

- Kotsonis, F.N., Klaasen, C.D.
Comparison of methods for estimating hepatic metallothionein in rats
Toxicol. Appl. Pharmacol. 42 (1977) 583 - 588
- Leber, A.P., Miya, T.S.
A mechanism for cadmium- and zinc-induced tolerance to cadmium toxicity: involvement of metallothionein
Toxicol. Appl. Pharmacol. 37 (1976) 403 - 414
- Lee, S.S., Mate, B.R., von der Trenck, K.T.
Rimerman, R.A., Buhler, D.R.
Metallothionein and the subcellular localisation of mercury and cadmium in the California sea lion
Comp. Biochem. Physiol. C 57 (1977) 45 - 53
- McNeely, M.
Chemical monitoring of exposure to heavy metals
CMA Journal 118 (1978) 478 - 479
- Nomiyama, K., Foulkes, E.C.
Reabsorption of filtered cadmiumthionein in the rabbit kidney
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 156 (1977) 97 - 99
- Nordberg, M., Trojanowska, B., Nordberg G.F.
Studies on metal-binding proteins of low molecular weight from renal tissue of rabbits exposed to cadmium or mercury
Environ. Physiol. Biochem. 4 (1974) 149 - 158
- Nordberg, G.F., Goyer, R., Nordberg, M.
Comparative toxicity of cadmium metallothionein and cadmium chloride on mouse kidney
Arch. Pathol. 99 (1975) 192 - 197
- Nordberg, M.
Studies on metallothionein and cadmium
Environ. Res. 15 (1978) 381 - 404
- Oh, S.H., Deagen, J.T., Whanger, P.D., Weseig, P.H.
Biological function of metallothionein. IV. Biosynthesis and degradation of liver and kidney metallothionein in rats fed diets containing zinc or cadmium
Bioinorg. Chem. 8 (1978 a) 245 - 254
- Oh, S.H., Deagen, J.T., Whanger, P.D., Weswig, P.H.
Biological function of metallothionein. V. Its induction in rats by various stresses
Am. J. Physiol. 234 (1978 b) 282 - 285 .

Osborn, D.

A naturally occurring cadmium and zinc-binding protein from the liver and kidney of *Fulmarus glacialis*, a pelagic North Atlantic seabird
Biochem. Pharmacol. 27 (1978) 822 - 824

Petit Clerc, C., Munan, L., Kelly, A., Côté, M.
Serum cadmium concentrations in patients from a cardiac clinic in health controls

Brown S.S., ed: Clinical chemistry and chemical toxicology of metals.
Elsevier /North-Holland, Amsterdam (1977)

Piotrowski, J.K., Trojanowska, B., Sapota, A.
Binding of cadmium and mercury by metallothionein in the kidneys and liver of rats following repeated administration
Arch. Toxicol. 32 (1974) 351 - 360

Piotrowski, J.K., Szymanska, I.A.
Influence of certain metals on the level of metallothionein-like proteins in the liver and kidneys of rats
J.Toxicol. Environ. Health 1 (1976) 991 - 1002

Piotrowski, J.K., Bem, E.M., Werner, A.
Cadmium and mercury binding to metallothionein as influenced by selenium
Biochem. Pharmacol. 26 (1977) 2191 - 2192

Piscator, M., Pettersson, B.
Chronic cadmium poisoning-diagnosis and prevention
Brown S.S., ed: Clinical chemistry and chemical toxicology of metals.
Elsevier /North-Holland, Amsterdam (1977)

Premakumar, R., Winge, D.R., Wiley, R.D.,
Rajagopalan, K.V.
Copper-chelatin: isolation from various eucaryotic sources
Arch. Biochem. Biophys. 170 (1975 a) 278 - 288

Premakumar, R., Winge, D.R., Wiley, R.D.,
Rajagopalan, K.V.
Copper induced synthesis of copper-chelatin in rat liver
Arch. Biochem. Biophys. 170 (1975 b) 267 - 277

Prinz, R., Weser, U.
A naturally occurring Cu-thionein in *Saccharomyces cerevisiae*
Hoppe Seyler's Z. Physiol. Chem. 356 (1975) 767 - 776

Probst, G.S., Bousquet, W.F., Miya, T.S.
Correlation of hepatic metallothionein concentrations with acute cadmium toxicity in the mouse
Toxicol. Appl. Pharmacol. 39 (1977) 61 - 69

- Pulido, P., Kägi, J.H.R., Vallee, B.L.
Isolation and some properties of human metallothionein
Biochemistry 5 (1966) 1768 - 1777
- Richards, M.P., Cousins, R.J.
Mammlian zinc homeostasis: requirement for RNA and metallothionein synthesis
Biochem. Biophys. Res. Commun. 64 (1975) 1215 - 1223
- Richards, M.P., Cousins, R.J.
Metallothionein and its relationship to the metabolism of dietary zinc in rats
J. Nutr. 106 (1976) 1591 - 1599
- Richards, M.P., Cousins, R.J.
Isolation of an intestinal metallothionein induced by parenteral zinc
Biochem. Biophys. Res. Commun. 75 (1977) 286 - 293
- Rosemont, J.L.
Interaction of ascorbic acid and metallothionein-like fractions from equine renal cortex
Arch. Int. Physiol. Biochem. 81 (1973) 385
- Rudd, C.J., Herschman, H.R.
Metallothionein accumulation in response to cadmium in a clonal rat liver cell-line
Toxicol. Appl. Pharmacol. 44 (1978) 511 - 521
- Ryden, L., Deutsch, H.F.
Preparation and properties of the major copper-binding component in human fetal liver
J. Biol. Chem. 253 (1978) 519 - 524
- Sabbioni, E., Marafante, E.
Heavy metals in rat liver cadmium binding protein
Environ. Physiol. Biochem. 5 (1975) 132 - 141
- Saris, N.E., Jarvisalo, J.
Transport and binding of cadmium in kidney mitochondria
Brown S.S., ed; Clinical chemistry and chemical toxicology of metals.
Elsevier /North-Holland, Amsterdam (1977)
- Schmidt, M.
Anorganische Chemie
B.I. Wissenschaftsverlag (1961)
- Schwarz, K.
Essentiality versus toxicity of metals.
Brown S.S., ed; Clinical chemistry and chemical toxicology of metals.
Elsevier /North-Holland, Amsterdam (1977)

Shaikh, Z.A., Smith, J.C.

The mechanism of hepatic and renal metallothionein-biosynthesis
in cadmium-exposed rats

Chem. Biol. Interact. 19 (1977) 161 - 171

Sharoyan, S.G., Shaljian, A.A., Nalbandyan, R.M.,
Buniatian, H.Ch.

Two copper-containing proteins from white and gray matter of brain

Biochem. Biophys. Acta. 493 (1977) 465 - 477

Singh, K., Nath, R.

Studies on the identification of the cadmium-binding protein in rat testis

Biochem. J. 128 (1972) 48 P - 49 P

Sobocinski, P.Z., Canterbury, W.J., Mapes, C.A.,
Dinterman, R.E.

Involvement of hepatic metallothioneins in hypozincemia associated
with bacterial infection

Am. J. Physiol. 234 (1978) E 399 - E 406

Squibb, K.S., Cousins, R.J., Silbon, B.L., Levin, S.

Liver and intestinal metallothionein: function in acute cadmium toxicity

Exp. Mol. Pathol. 25 (1976) 163 - 171

Squibb, K.S., Cousins, R.J., Feldman, S.L.

Control of zinc-thionein synthesis in rat liver

Biochem. J. 164 (1977) 223 - 228

Stadtman, T.C.

Biological function of selenium

Nutr. Rev. 35 (1977) 161 - 166

Suda, T., Horiuchi, N., Ogata, E., Ezawa, I.,
Otaki, N., Kimura, M.

Prevention by metallothionein of cadmium-induced inhibition of
vitamin D activation in kidney

FEBS Letters 42 (1974) 23 - 26

Suzuki, K.T., Kubota, K., Takenaka, S.

Copper in cadmium-exposed rat kidney metallothionein

Chem. Pharm. Bull. 25 (1977) 2792 - 2794

Symonyan, M.A., Nalbandyan, R.M.

Some properties of erythrocyte treated by organic solvents

Biochem. Biophys. Acta. 446 (1976) 432 - 444

Syversen, T.L.M.

Cadmium binding in human liver and kidney

Arch. Environ. Health. 30 (1975) 158 - 161

Szymanska, J.A., Mogilnicka, E.M., Kaszper, B.W.
Binding of bismuth in the kidneys of the rat: The role of metallothionein-like proteins

Biochem. Pharmacol. 26 (1977) 257 - 258

Vaasjoki, R., Miettinen, J.K.

Zn/Cd and Zn/Hg interactions in rainbow trout studied by gel chromatography and isoelectric focusing

Brown S.S., ed: Clinical chemistry and chemical toxicology of metals.
Elsevier /North-Holland, Amsterdam (1977)

Valberg, L.S., Haist, J., Cherian, M.G.,

Delaquerriere - Richardson, L., Goyer, R.A.

Cadmium-induced enteropathy: comparative toxicity of cadmium-chloride and cadmium-thionein

J. Toxicol. Environ. Health. 2 (1977) 963 - 975

Webb, M.

The metallothioneins

Biochem. Soc. Trans. 3 (1975) 632 - 634

Webb, M., Verschöyle, R.D.

An investigation of the role of metallothioneins in protection against the acute toxicity of the cadmium ion

Biochem. Pharmacol. 25 (1976) 673 - 679

Webb, M., Etienne, A.T.

Studies on the toxicity and metabolism of cadmium-thionein

Biochem. Pharmacol. 26 (1977) 25 - 30

Winge, D.R., Premakumar, R., Rajagopalan, K.V.

Metal-induced formation of metallothionein in rat liver

Arch. Biochem. Biophys. 170 (1975 a) 242 - 252

Winge, D.R., Premakumar, R., Wiley, R.D.,

Rajagopalan, K.V.

Copper-chelatin: purification and properties of a copper-binding protein from rat liver

Arch. Biochem. Biophys. 170 (1975 b) 253 - 266

Winge, D.R., Premakumar, R., Rajagopalan, K.V.

Studies on the zinc content of cadmium-induced thionein

Arch. Biochem. Biophys. 188 (1978) 466 - 475

Yau, E., Mennear, J.

Pancreatic metallothionein: Protection against cadmium-induced inhibition of insulin secretory activity

Toxicol. Appl. Pharmacol. 39 (1977) 515 - 520

Zelazowski, A.J., Piotrowski, J.K.

The levels of metallothionein-like proteins in animal tissues

Experientia 33 (1977) 1624 - 1625

An dieser Stelle möchte ich
Herrn Professor Dr. H -B. Wuermeling
für die Übernahme des Korreferates danken.

Mein besonderer Dank gilt
Frau Professor Dr. Dr M. Geldmacher-v. Malinckrodt
für die Überlassung des Themas und ihre Unterstützung
bei der Durchführung der Dissertation.

LEBENS LAUF

Am 2. März 1954 wurde ich als zweites Kind des prakt. Tierarztes Dr. Kurt Tuchlinski und seiner Ehefrau Carmen in Marktredwitz geboren. Von 1960 bis 1964 besuchte ich die Evang. Volksschule in Marktredwitz, anschließend bis zum Abitur im Jahre 1973 das Otto-Hahn-Gymnasium Marktredwitz. Vom 1. 10. 1973 bis 31. 12. 1974 leistete ich bei der Bundeswehr den Grundwehrdienst ab. Im März 1975 erhielt ich die Zulassung zum Studium der Zahnmedizin an der Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg. Dort legte ich 1977 das Physikum ab und beendete das Studium im Juli 1980 mit dem Staatsexamen.

